

Aus dem Institut für tierärztliche Lebensmittelhygiene
der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. F. Untermann

ZUM VORKOMMEN UND ZUR VERMEHRUNG VON ENTEROPATHOGENEN YERSINIA ENTEROCOLITICA IN ROHEN FLEISCHHALBFABRIKATEN

Ein Beitrag zur Epidemiologie
enteraler *Y. enterocolitica*-Infektionen
des Menschen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
NORBERT KLEINLEIN
Tierarzt von Berlin/BRD

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. F. Untermann, Referent
Prof. Dr. H.U. Bertschinger, Korreferent

Zürich 1987
Zentralstelle der Studentenschaft

Aus dem Institut für tierärztliche Lebensmittelhygiene
der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. F. Untermann

ZUM VORKOMMEN UND ZUR VERMEHRUNG VON ENTEROPATHOGENEN YERSINIA ENTEROCOLITICA IN ROHEN FLEISCHHALBFABRIKATEN

Ein Beitrag zur Epidemiologie
enteraler Y. enterocolitica-Infektionen
des Menschen

Inaugural-Dissertation

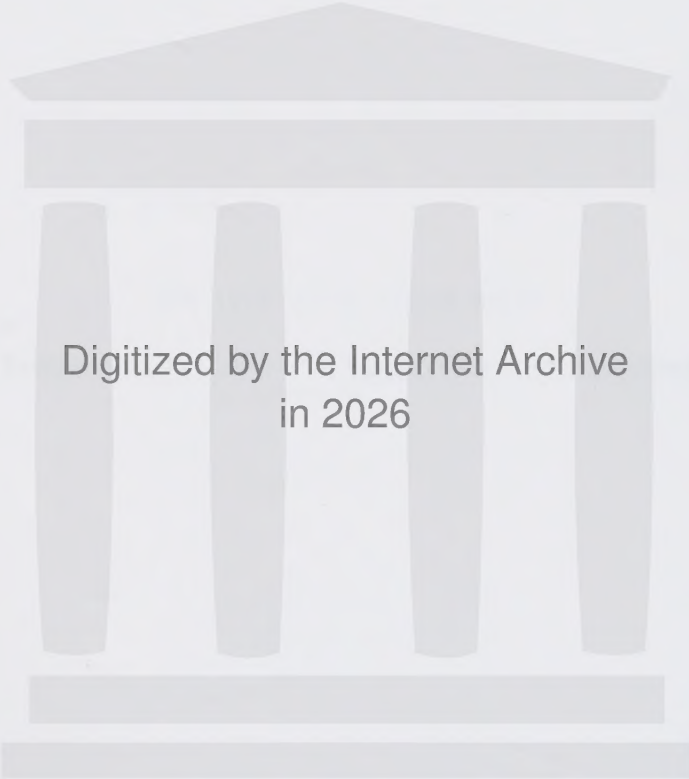
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
NORBERT KLEINLEIN
Tierarzt von Berlin/BRD

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. F. Untermann, Referent
Prof. Dr. H.U. Bertschinger, Korreferent

Zürich 1987
Zentralstelle der Studentenschaft

Diese Arbeit wurde durch das
Bundesamt für Veterinärwesen finanziell unterstützt.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Für Karla, Steffen und Christian

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		<u>Seite</u>
I.	<u>EINLEITUNG</u>	1
II.	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	3
II.1.	Taxonomie von <i>Y. enterocolitica</i>	3
II.1.1.	Allgemeine Eigenschaften und geschichtlicher Rückblick	3
II.1.2.	Einteilung in Biotypen	4
II.1.3.	Einteilung in Serotypen und deren geographische Verbreitung	4
II.2.	Pathogenitätsfaktoren	6
II.3.	Nachweis von <i>Y. enterocolitica</i>	8
II.4.	Tenazitäts- und Vermehrungsstudien mit <i>Y. enterocolitica</i>	14
II.4.1.	Tenazität des Erregers	14
II.4.1.1.	Einfluss höherer Temperaturen	14
II.4.1.2.	Einfluss von Gefriertemperaturen	16
II.4.1.3.	Einfluss tiefer und hoher pH-Werte	17
II.4.2.	Vermehrung von <i>Y. enterocolitica</i>	19
II.4.2.1.	Einfluss der Temperatur und Begleitflora	19
II.4.2.2.	Einfluss des pH-Wertes	25
II.4.2.3.	Einfluss von NaCl und Nitrit	26
II.4.2.4.	Einfluss reduzierter Sauerstoffspannung	28
II.5.	Vorkommen von <i>Y. enterocolitica</i> auf Schweinetsillen	29
II.6.	Vorkommen von <i>Y. enterocolitica</i> in Fleisch und Fleischzubereitungen	31

	<u>Seite</u>
III. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	33
III.1. Material und Methoden	33
III.1.1. Probenherkunft und -aufarbeitung	33
III.1.1.1. Tonsillen	33
III.1.1.2. Fleischhalbfabrikate	33
III.1.1.3. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch	34
III.1.2. Nährmedien und Keimisolierung	38
III.1.2.1. Tonsillen und Fleischhalbfabrikate	38
III.1.2.2. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch	40
III.1.3. Keimidentifizierung	43
III.2. Ergebnisse	46
III.2.1. Vorkommen von Yersinien in Tonsillen und Fleischhalbfabrikaten	46
III.2.1.1. Häufigkeit von Yersinien in Schweine- tonsillen	46
III.2.1.2. Vorkommen von Yersinien in Fleisch- halbfabrikaten	47
III.2.1.3. Einfluss der Isolierungsmethoden auf die Häufigkeit des Nachweises von Yersinien	48
III.2.2. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch	50
III.2.2.1. Vermehrung von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungs- temperaturen in Kalbsbratwurstbrät	50
III.2.2.2. Vermehrung von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungs- temperaturen in Luganigabrät	52
III.2.2.3. Vermehrung von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungs- temperaturen in Hackfleisch mit unter- schiedlicher Begleitflora sowie mit und ohne Schutzgas	53

		<u>Seite</u>
IV.	<u>DISKUSSION</u>	57
IV.1.	Nachweis von Yersinien in Tonsillen und Fleischhalbfabrikaten	57
IV.1.1.	Häufigkeit von pathogenen und nicht- pathogenen Y. enterocolitica sowie anderen Yersinia-Spezies	57
IV.1.2.	Eignung verschiedener Anreicherungs- und Selektivmedien zum Nachweis von Yersinia-Spezies	60
IV.2.	Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch	62
IV.2.1.	Vermehrung von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungs- temperaturen in Kalbsbratwurst- und Luganigabrät	62
IV.2.2.	Vermehrung von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungs- temperaturen in Hackfleisch mit unter- schiedlicher Begleitflora sowie mit und ohne Schutzgas	65
IV.2.3.	Vergleich des Wachstumsverhaltens von Y. enterocolitica 0:3 und 0:9 in Kalbsbratwurstbrät und in keimhaltigem Hackfleisch ohne Schutzgas	70
IV.3.	Zusammenfassende Bewertung der Ergeb- nisse	72
V.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	74
VI.	<u>TABELLEN UND ABBILDUNGEN</u>	77
VII.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	105

I. EINLEITUNG

Berichte über Enteritiden des Menschen durch *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) haben in den letzten Jahren ständig zugenommen und verschiedene Autoren vertreten die Auffassung, dass dieser Erreger nach Salmonellen, Shigellen und *Campylobacter* zu den häufigsten Ursachen bakterieller Darminfektionen zählt. Die erforderliche Keimzahl zum Haften einer Infektion ist bei *Y. enterocolitica* wesentlich höher als bei den anderen drei Gattungen und liegt nach Szita et al. (1980) bei ca. 10^9 Yersinien pro Person. Ausserdem gelten nur bestimmte Sero- und Biotypen als pathogen für den Menschen (Aleksic et al. 1986, Bockemühl 1982, Knapp 1983, Knapp und Weber 1982, Primavesi 1980, Schulze 1986).

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen von Schweinefaeces und Schweinetonsillen gilt das Schwein als ein natürliches Reservoir für *Y. enterocolitica* (Christensen 1980 b, Pedersen 1979). Insbesondere die für den Menschen pathogenen Serotypen O:3 und O:9 werden häufig von Schweinetonsillen isoliert. Trotzdem wurden bislang keine direkten Zusammenhänge zwischen Erkrankungen durch *Y. enterocolitica* beim Menschen und dem Verzehr von Fleisch oder Fleischwaren festgestellt. In Fleisch, ausgenommen Schweineezungen, und Fleischwaren konnten nach der vorliegenden Literatur humanpathogene Serotypen nur selten gefunden werden. Andererseits bietet gekühlt gelager-tes Fleisch günstige Voraussetzungen für die Vermehrung von *Y. enterocolitica*, weil sich der Erreger noch bis zu Temperaturen von $0^\circ - 1^\circ \text{C}$ vermehren kann.

Für den Nachweis von Yersinien werden eine Reihe von Kultivierungsmethoden empfohlen. Dabei wird darauf hingewiesen, dass die verschiedenen Serotypen z.T. unterschiedliche Ansprüche an die Anreicherungs- und Isolierungsverfahren stellen. Für Fleisch und Fleischerzeugnisse gibt es bisher keine einheitlichen Empfehlungen und gerade dieses Material stellt wegen der vielschichtigen Begleitflora andere Anforderungen

an die Selektivität der Anzüchtungsverfahren als z.B. Milch oder Wasser.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zunächst das Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in rohen Fleischhalbfabrikaten zu untersuchen. Hierbei wurden, im Hinblick auf die erwähnten Schwierigkeiten beim Nachweis, verschiedene Kultivierungsverfahren parallel eingesetzt. Eine Untersuchung von Schweinetonstillen erfolgte, da für die Schweiz bisher nur eine Publikation über den Nachweis von *Y. enterocolitica* in Schweinekot vorliegt.

Ferner wurden Untersuchungen über die Vermehrung pathogener Serotypen in rohen Fleischhalbfabrikaten durchgeführt, um Hinweise zu erhalten, ob und unter welchen Voraussetzungen in der Praxis mit einer starken Anreicherung der *Yersinien* in solchen Fleischzubereitungen zu rechnen ist.

II. LITERATURÜBERSICHT

II.1. Taxonomie von *Y. enterocolitica*

II.1.1. Allgemeine Eigenschaften und geschichtlicher Rückblick

Y. enterocolitica, ein gramnegatives, kokkoides Stäbchen, gehört zur Familie der Enterobakteriazeen und ist bei 37° C unbeweglich, da es nur bei Temperaturen unter 30° C peritrichische Begeißelung aufweist. Der Keim wächst fakultativ anaerob. Glukose und andere Kohlenhydrate werden unter Säurebildung mit geringer oder keiner Gasproduktion fermentiert. Die biochemischen Aktivitäten sind oft temperaturabhängig und zeigen sich häufig nur bei Temperaturen unter 30° C wie z.B. die Voges-Proskauer-Reaktion.

Bereits vor über 60 Jahren ist *Y. enterocolitica* aus einem chronischen Granulom am Kopf eines Menschen isoliert worden und 1938 fand man den gleichen Erreger in einem Darmgeschwür eines an akuter Enterocolitis gestorbenen Jugendlichen. Der Erreger zeigte ähnliche Eigenschaften wie *Pasteurella pseudotuberculosis*. Er konnte zunächst taxonomisch nicht eingeordnet werden. Später wurde er als *Bacterium enterocoliticum* bezeichnet (Schleifstein und Coleman 1939, 1943). Frederiksen (1964) schlug die Bezeichnung *Yersinia enterocolitica* vor, wobei er den Gattungsnamen *Yersinia* gewählt hatte, um den Schweizer Bakteriologen A.E.J. Yersin zu ehren, der 1894 den Erreger der Pest entdeckt hatte. 1974 wurde diese Bezeichnung in die 8. Auflage von Bergey's Manual of Determinative Bacteriology übernommen und die 3 Spezies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* genannt. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1 (1984) erfolgte eine weitere Unterteilung und neben den drei erstgenannten Spezies wird zusätzlich zwischen *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii* und *Y. ruckeri* unterschieden.

II.1.2. Einteilung in Biotypen

Die Spezies *Y. enterocolitica* umfasst eine Keimgruppe, die auf Grund biochemischer Eigenschaften in 5 Biotypen unterteilt wird. Diese Aufteilung wurde zunächst von Nilehn (1969 a) vorgenommen und von Wauters (1970, 1981 b) und Bercovier et al. (1980) modifiziert. Letztere wurde in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1 (1984) übernommen und ist in Tabelle 13 dargestellt.

Die Biotypen 1, 2 und 3 kommen sowohl in der Umwelt als auch bei Mensch und Tier vor. Dagegen wird der Biotyp 4 nur beim Mensch und Schwein und der Biotyp 5 nur bei Hasen und Ziegen gefunden (Bercovier et al. 1980, Winblad 1979).

II.1.3. Einteilung in Serotypen und deren geographische Verbreitung

Neben der Einteilung in Biotypen wurde auch eine Unterteilung in Serotypen vorgenommen. Ebenso wie bei Salmonellen lassen sich O- (Oberflächen), H- (Geißel), K- (Kapsel) Antigene unterscheiden. Für die routinemässige Differenzierung werden üblicherweise nur die O-Antigene verwendet. Das erste Schema für die Serotypisierung von *Y. enterocolitica* bestand aus 8 O-Antigen-Faktoren (Winblad 1967) und wurde später auf 57 O-Faktoren bzw. 50 O-Typen erweitert (Wauters 1981 a, Wauters et al. 1971, 1972). Hiermit lassen sich auch Stämme von *Y. intermedia*, *Y. kristensenii* und *Y. frederiksenii* typisieren. Daher schlugen Aleksic und Bockemühl (1984) für die Typisierung von *Y. enterocolitica*-Stämmen eine Reduzierung auf 20 O-Faktoren bzw. 18 O-Typen vor.

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen konnte man feststellen, dass die humanpathogenen Serotypen bestimmten Biotypen zuzuordnen sind. Die wichtigsten humanpathogenen Serotypen sind O:3, O:9, O:8 und O:5,27. Der Serotyp O:3 lässt sich überwiegend dem Biotyp 4, der Serotyp O:8 dem Biotyp 1 und der Serotyp O:9 sowie O:5,27 dem Biotyp 2 zuordnen (Christensen 1980 a, Knapp 1983, Wauters 1981 b). Die Serotypen O:3 und O:9 können aber auch dem Biotyp 3 (Winblad 1979), der Serotyp O:8 den Biotypen 2 und 3 sowie der Serotyp O:5,27 den Biotypen 1 und 3 angehören (Bercovier et al. 1980).

Zusätzlich lässt sich eine geographische Zuordnung der verschiedenen Stämme vornehmen. Der Serotyp O:3 ist weltweit verbreitet und in Europa, Asien, Südamerika, Canada und Südafrika kommt ihm die grösste Bedeutung als Erreger von *Y. enterocolitica* verursachten Enteritiden zu. Der Serotyp O:9 wurde neben dem Serotyp O:3 hauptsächlich in Nordeuropa und besonders in Finnland, Belgien, Holland und Nordschweden gefunden. Der Serotyp O:8 kommt fast ausschliesslich in den USA vor, während der Serotyp O:3 hier selten isoliert wurde. Der Serotyp O:5,27 wurde zusätzlich zu den Serotypen O:3 und O:9 in Canada und Japan gefunden (Bockemühl 1982, Christensen 1980 a, Esseveld und Goudzwaard 1973, Toma und Lafleur 1981, Vandepitte et al. 1973, Vandepitte und Wauters 1979).

Neben den oben erwähnten Serotypen konnten gelegentlich auch andere Serotypen vom Menschen isoliert werden, wie z.B. O:5, O:13, O:21 oder O:34, deren klinische Bedeutung jedoch noch zum Teil unklar ist (Schiemann 1984 a, Schiemann et al. 1981, Toma und Lafleur 1981, Toma et al. 1984).

II.2. Pathogenitätsfaktoren

Zur weiteren Charakterisierung epidemiologisch inkriminierter *Y. enterocolitica*-Stämme sind verschiedene Pathogenitätstests vorgeschlagen worden. Diese werden sowohl an Versuchstieren, z.B. Mäusen und Meerschweinchen als auch in vitro durchgeführt:

Bei adulten Mäusen wird das Auftreten von Diarrhoe oder Sepsis nach Aufnahme von *Y. enterocolitica*-Suspensionen untersucht (Laird und Cavanaugh 1980), während im Säuglingsmäuse-test die Bildung von Enterotoxin bestimmt wird, indem man den Mäusen das fragliche Kulturfiltrat in den Magen injiziert und nach 4 Stunden für die Beurteilung das Verhältnis von Darmgewicht zum restlichen Körpergewicht heranzieht (Pai und Mors 1978). Die Fähigkeit zur Zellinvasivität kann entweder mit dem Korneaepithelzellen-Test nach Sereny am Meerschweinchen überprüft werden, welcher im positiven Fall zu einer Keratokonjunktivitis führt (Feeley et al. 1979, Gemski et al. 1980), oder in vitro an HeLa- oder Schweinenieren-Zellen, wobei die Bestimmung lichtmikroskopisch erfolgt (Pedersen et al. 1979). Nach Zink et al. (1980) ist die Zellinvasivität an ein Plasmid gekoppelt. Die Autoagglutination wurde von Laird und Cavanaugh (1980) beschrieben. Sie stellten fest, dass Stämme, die bei adulten Mäusen Diarrhoe oder Sepsis hervorriefen, bei einer Anzüchtungstemperatur von 36° C im Kulturmedium agglutinierten, während sie dies bei einer Temperatur von 26° C nicht zeigten.

Ebenso wie *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* ist auch *Y. enterocolitica* in der Lage, einen V-W-Antigenkomplex, bestehend aus einem Protein- (V) und Lipoprotein- (W) Anteil, welcher einen Phagocytoseschutz darstellt, zu bilden. Eine annähernd optimale Bildung von V-W-Antigen geschieht in vitro in einem calciumarmen Medium mit Magnesiumzusatz bei einer Inkubationstemperatur von 37° C, wobei unter diesen Kultivierungsbedingungen gleichzeitig ein bakteriostatischer Effekt bei V-W-Antigen-bildenden Stämmen, jedoch nicht bei

V-W-Antigen-negativen Stämmen, vorhanden ist. Die Bildung dieses Antigenkomplexes konnte von Carter et al. (1980) bei mäusevirulenten Stämmen beobachtet werden. Pai und De Stephano (1982) verzeichneten, dass Stämme, die bei Mäusen und Kaninchen virulent waren, sich resistent gegenüber dem bakteriziden Einfluss von Normalserum bei 37° C verhielten.

Eine ausführliche Uebersicht über die verschiedenen Pathogenitätsfaktoren ist in der Dissertation von Hammerschmidt (1983) zu finden. Hervorzuheben ist, dass zwischen den verschiedenen Pathogenitätstest keine mehrheitliche Übereinstimmung besteht (Aulisio et al. 1983, Chang et al. 1984, Chiesa und Bottone 1983, Kandola und Wauters 1985, Kaneko und Maruyama 1986, Prpic et al. 1985, Stern und Damare 1982).

II.3. Nachweis von *Y. enterocolitica*

Eine erfolgreiche Isolierung von *Y. enterocolitica* hängt von verschiedenen Faktoren ab, wie der Auswahl geeigneter Anreicherungs- und Isolierungsmedien, der Inkubationstemperatur und -dauer sowie der Menge von *Y. enterocolitica* im Verhältnis zur Begleitflora und der Zusammensetzung der Begleitflora im Untersuchungsmaterial (Nilehn 1969 a). Hinzu kommt, dass die optimalen Kultivierungsbedingungen für verschiedene Serotypen unterschiedlich sind. Somit sind bei der Auswahl geeigneter Nachweisverfahren die Art des Untersuchungsmaterials mit seiner eigenen Keimflora sowie die zu erwartenden Serotypen zu berücksichtigen. Daher werden von vielen Autoren für die Isolierung von *Y. enterocolitica* mehrere Anreicherungs- und Selektivmedien parallel verwendet (Delmas und Vidon 1985, De Zutter und Van Hoof 1986, Feeley et al. 1976, Fukushima et al. 1984 b, Lee 1977 a,b, Moustafa et al. 1983 a, Nilehn 1969 a,b, Schiemann 1982, Schiemann und Toma 1978, Stern 1981, Toma 1973, Weber und Lembke 1981).

Grundsätzlich werden von allen Autoren flüssige Anreicherungsmedien eingesetzt, aus denen auf feste elektive bzw. selektive Medien überimpft wird. In vielen Arbeiten wird eine zusätzliche Voranreicherung bzw. eine zweistufige Anreicherung empfohlen. Von einigen Autoren wird das bebrütete Anreicherungsmedium vor dem Ueberimpfen auf feste Nährmedien mit KOH behandelt, um die bei der Auswertung der Platten störende Begleitflora zu verringern.

In der Tabelle 1 sind die am häufigsten verwendeten Anreicherungsmedien aufgeführt. Die meisten Autoren stimmen darin überein, dass das Modifizierte-Rappaport-Medium (MRB) nach Wauters besonders gut geeignet ist für die Isolierung der Serotypen 0:3 und 0:9 (Lee 1977 a, Schiemann 1982, Van Noyen et al. 1980, Wauters 1973, Weber und Lembke 1981). Dieses Medium soll hingegen weniger geeignet sein für den Nachweis von *Y. enterocolitica*-0:8 und -0:5,27 und diese Serotypen in ihrem Wachstum sogar hemmen (Lee 1977 a, Schiemann 1979 a, 1983 b).

So empfiehlt Schiemann (1982, 1983 b) für die Isolierung des Serotyps 0:8 das von ihm entwickelte Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Medium (BOS) und Lee et al. (1980) die von ihnen modifizierten Selenit-Medien, die sich auch für die Isolierung des Serotyps 0:3 eignen sollen. Grundsätzlich ist der Nachweis des Serotyps 0:8 schwieriger, und es sind daher höhere Anforderungen an die Isolierungsverfahren zu stellen (Lee et al. 1980, Schiemann 1979 a, 1982). Dieser Typ kommt allerdings, wie bereits ausgeführt, in Europa kaum vor.

Die Bebrütungstemperaturen reichen von 29° bis 4° C (Kälteanreicherung), wobei auch Kombinationen einer Kälteanreicherung mit anschliessender Bebrütung bei 35° C möglich sind (Traub und Spohr 1982). Grosse Unterschiede bestehen auch in der Bebrütungszeit (ca. 16 h - 30 d). Bei 4° C sind wesentlich längere Inkubationszeiten nötig als für Anreicherungen bei 22° C.

Die nach der Literatur am erfolgreichsten eingesetzten zweistufigen Anreicherungsverfahren sind in der Tabelle 2 aufgelistet. Die verschiedenen Anreicherungsmedien werden in unterschiedlicher Kombination angewendet. Von den meisten Autoren wird die erste Anreicherung als Kälteanreicherung geführt und die zweite Anreicherung bei 22° - 25° C inkubiert. Schiemann (1983 b, 1984 b) empfiehlt eine 3-fache Temperaturkombination: bei der ersten Anreicherung wird zunächst 1-2 Tage bei 15° - 22° C oder bei 2° - 4° C für 4-9 Tage bebrütet. Die zweite Anreicherung wird bei 22° - 25° C (3-5 Tage) vorgenommen.

Wie aus den Tabellen 1 und 2 zu ersehen ist, wird die Kälteanreicherung für sich alleine oder in Kombination mit einer Anreicherung bei höheren Temperaturen von sehr vielen Autoren verwendet. Die Vorteile der Kälteanreicherung werden unterschiedlich gesehen. Schiemann (1979 a) stellte bei seinen Untersuchungen mit Hackfleisch, das er mit verschiedenen Serotypen kontaminiert hatte, keine Vorteile einer vorgeschalteten Kälteanreicherung gegenüber einer ausschliesslichen An-

reicherung im Modifizierten-Rappaport-Medium (23° C) fest. Nesbakken (1985) bevorzugt eine reine Kälteanreicherung in Phosphatpuffer-Lösung mit Sorbitol und Gallensalzen, da sie für die Isolierung pathogener 0:3-Stämme aus Schweinetonsillen und -zungen besser geeignet sei als eine Kombination der Kälteanreicherung mit dem Modifizierten-Rappaport-Medium. Auch Fukushima et al. (1984 b) konnten bei Rohmilch mit reiner Kälteanreicherung bessere Ergebnisse erzielen als mit einer Kombination von Kälteanreicherung und Modifiziertem-Rappaport-Medium (25° C). In dem von ihnen untersuchten Material fanden sie jedoch keine humanpathogenen Stämme.

Doyle et al. (1981) erzielten demgegenüber mit einer reinen Kälteanreicherung in Phosphatpuffer-Lösung bei der Untersuchung von Schweinezungen schlechtere Ergebnisse als bei einer Kombination der Kälteanreicherung mit einer Bebrütung im Modifizierten-Rappaport-Medium bei 27° C. Gleiche Beobachtungen machten Harmon et al. (1984), die Schweinezungen, zugeschnittenes Schweinefleisch sowie Oberflächentupfer von geschlachteten Schweinetierkörpern untersuchten.

Van Pee und Stragier (1979) empfehlen auf Grund ihrer Untersuchungen an Bouillonkulturen mit den Serotypen 0:3 und 0:9 als Kälteanreicherung die Trypticase-Soja-Bouillon, mit der sie bessere Ergebnisse als mit verschiedenen Phosphatpuffer-Lösungen erzielten. Dies steht in Übereinstimmung mit der Aussage von Schiemann (1983 b), der nährstoffreichere Medien wie z.B. Trypticase-Soja-Bouillon oder Hefeextrakt-Bengalrosa-Bouillon für die Voranreicherung gegenüber Phosphatpuffer-Lösung mit Sorbitol und Gallensalzen bevorzugt. Er hatte seine Untersuchungen an eingedostem Rinderschmorbraten durchgeführt, den er mit verschiedenen *Y. enterocolitica*-Serotypen (0:3, 0:8, 0:5,27) und mit 10 verschiedenen Spezies gramnegativer Bakterien kontaminiert hatte. Schiemann und Olson (1984) weisen darauf hin, dass es nicht notwendig sei, mit der Temperatur für die Kälteanreicherung auf 4° C herunterzugehen, da die Begleitflora in ihrem Wachstum gegenüber *Y. enterocolitica* bei 15° C in gleicher Weise gehemmt wird, *Y. enterocolitica* bei der erhöhten Temperatur jedoch schnell-

ler wächst und sich somit die Nachweiszeit verkürzen lässt.

Die Alkalibehandlung zur Verringerung der Begleitflora wurde erstmals von Aulisio et al. (1980) beschrieben. Eine Oese (0,04 ml) des bebrüteten Anreicherungsmediums wird mit 0,1 ml einer Lösung aus 0,5% KOH sowie 0,5% NaCl vermischt und nach einigen Sekunden auf eine Mac Conkey-Agarplatte überimpft. Die Autoren beobachteten durch diese Alkalibehandlung eine wesentlich höhere Isolierungsrate von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus natürlich und künstlich kontaminierten Lebensmitteln. Diese Technik wurde von einer Reihe von Autoren übernommen und gleichzeitig modifiziert. Verändert wurden die KOH-Konzentration und die Einwirkungszeit sowie das Verhältnis vom Anreicherungsmedium zur KOH-Menge. Eine Uebersicht über die verschiedenen, mit KOH durchgeführten, Verfahren findet sich in Tabelle 3.

Ueber gute Erfahrungen mit der KOH-Methode berichten Delmas und Vidon (1985), Doyle et al. (1981) und Moustafa et al. (1983 a), wobei die erstgenannten Autoren in ihrem Untersuchungsmaterial die Serotypen 0:3 und 0:9 nicht isolierten und Moustafa et al. (1983 a) keine Angaben über die Serotypen machen.

Andererseits wird von Zink et al. (1982) berichtet, dass der Serotyp 0:3 gegenüber der KOH-Behandlung empfindlicher sei als andere Serotypen. Kaneko et al. (1984) beimpften Fleisch mit 45 verschiedenen *Y. enterocolitica*-Stämmen ohne Angaben über die O-Gruppen-Zugehörigkeit zu machen und stellten bei einer Behandlung mit 0,4% KOH-Lösung für 15-30 Sekunden eine Reduzierung der Versinienkeimzahl um 1-2 Zehnerpotenzen fest.

Fukushima (1985) behandelte das homogenisierte Schweinefleisch, das er mit Versinien beimpft hatte sowie die daraus in Zehnerpotenzen hergestellten Verdünnungsstufen direkt mit einer 0,72% KOH-Lösung und impfte auf CIN- und Mac Conkey-Agar aus. Vergleichend führte er die KOH-Behandlung nach Anreicherung in Phosphatpuffer-Lösung (25° C 1 u. 2 Tage, 4° C 7 u. 14 Tage) durch. Eine Reisolierung der von ihm ver-

wendeten Serotypen (0:3, 0:5,27, 0:9, 0:8) gelang nur bei der direkten KOH-Behandlung der homogenisierten bzw. verdünnten Fleischproben, nicht jedoch über die Anreicherung mit anschliessender KOH-Behandlung. Er weist darauf hin, dass die direkte KOH-Behandlung ohne Anreicherung nur dann erfolgreich ist, wenn das Fleisch mehr als 100 Yersinien/g enthält. Bei einer Untersuchung von insgesamt 365 Fleischproben (Rind, Schwein, Huhn) aus dem Handel gelang es ihm ebenfalls, mit der direkten KOH-Behandlung 5 Stämme des Serotyps 0:3 aus 5 Schweinefleischproben zu isolieren. Nur 1 Stamm wurde nach 7-tägiger Anreicherung bei 4° C mit anschliessender KOH-Behandlung isoliert.

Schiemann (1983 a) weist auf die Abhängigkeit der Alkalitoleranz vom Anzüchtungsmedium, der Temperatur und der Wachstumsphase hin und empfiehlt, im Zusammenhang mit KOH-Behandlung keine stark selektiv wirksamen Medien, wie z.B. Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) für die Anzüchtung der Yersinien zu verwenden. Eine Ueberprüfung dieser Aussage anhand der oben erwähnten Arbeiten ist allerdings nicht möglich, da die Autoren, die eine KOH-Behandlung durchführten, meistens neben CIN noch einen weiteren Selektiv-Agar wie MacConkey-Agar verwendeten und keine Angaben über die Isolierungsraten auf den verschiedenen Selektivmedien machen. Letztlich ist z.Z. nicht endgültig zu beurteilen, ob und über welche Kultivierungsverfahren die KOH-Behandlung Vorteile bringt, zumindest wenn es um den Nachweis von sehr geringen Zahlen humanpathogener Yersinien geht.

Als feste Selektivmedien werden neben Nährböden für die Anzüchtung von Enterobakteriazeen speziell für die *Y. enterocolitica*-Diagnostik entwickelte Medien verwendet. Eine Uebersicht über diese für die *Yersinia*-Isolierung verwendeten und entwickelten Nährböden liefert die Tabelle 4.

Harmon et al. (1983) verglichen verschiedene Selektivnährmedien auf ihre Eignung zur Isolierung von *Y. enterocolitica* aus künstlich kontaminiertem Hackfleisch. Dabei erwies sich der von Schiemann (1979 b) entwickelte Cefsulodin-Irgasan-Nobobiocin-Agar (CIN) als das geeignetste Selektivmedium. Die Autoren empfehlen neben CIN mindestens ein weiteres Festnährmedium zu verwenden, wobei sie feststellten, dass Wismut-Sulfit-Agar (BS) eine sehr gute Ergänzung darstellt. Auch Zink et al. (1982) empfehlen CIN als Bestandteil jedes Isolierungsverfahrens. Ebenso beschreiben Head et al. (1982), Kaneko et al. (1984), Walker und Gilmour (1986) sowie Weber et al. (1983) CIN als effektivsten Selektivnährboden für die Isolierung von *Y. enterocolitica*.

II.4. Tenazitäts- und Vermehrungsstudien mit *Y. enterocolitica*

Seit mehr als 10 Jahren werden Versuche über das Verhalten von *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln durchgeführt. In verschiedenen älteren Arbeiten sind jedoch keine Angaben über den Sero- und Biotyp der verwendeten Stämme vorhanden, so dass eine Unterscheidung zwischen humanpathogenen und apathogenen Stämmen nicht möglich ist. Auch wird zum Teil nicht eindeutig zwischen *Y. enterocolitica* und *Y. enterocolitica*-ähnlichen Organismen unterschieden. Bekanntlich wurde erst 1980 (Bercovier et al.) die heute übliche Taxonomie für *Y. enterocolitica* eingeführt. Entsprechend ist die Bewertung dieser Untersuchungen zum Teil schwierig.

II.4.1. Tenazität des Erregers

II.4.1.1. Einfluss höherer Temperaturen

Hanna et al. (1977 a) untersuchten das Verhalten von 3 *Yersinia*-Stämmen, von denen 2 nach der neueren Nomenklatur *Y. intermedia* zuzuordnen sind (Aleksic und Bockemühl 1984, Brenner et al. 1980). Beim 3. Stamm handelte es sich um *Y. enterocolitica* aus der American Type Culture Collection (ATCC), Nr. 23715, der nach weiterführender Literatur von einem Patienten mit Bakteriämie isoliert wurde, ohne dass nähere Angaben über den Sero- und Biotyp vorhanden sind (Sonnenwirth 1970). Die Autoren impften die Stämme in unterschiedlichen Keimzahlen in Rindfleischstücke (Grösse 7,6 x 7,6 x 6,4 cm) und erhitzen das Fleisch auf verschiedene Kerntemperaturen von 51° - 62° C. Nach der Abkühlung untersuchten sie die Wiederfindungsrate. In 0,1 g liessen sich keine vermehrungsfähigen Keime mehr nachweisen, wenn bei einer Erhitzung auf 55° C 10^3 und bei einer Erhitzung auf 62° C 10^6 *Yersinien*/g injiziert worden waren.

Peixotto et al. (1979) führten ähnliche Untersuchungen in gekochtem Krabbenfleisch durch, das sie mit $10^7 - 10^8$ Yersinien/g des gleichen, wie von Hanna et al. (1977 a) in Rindfleisch verwendeten, ATCC-Stammes beimpften. Bei einer Erwärmung auf 55°C reduzierte sich die Yersinienzahl auf $10^4 - 10^5/\text{g}$ und bei 65°C waren keine vermehrungsfähigen Keime mehr nachweisbar.

Die Angaben der oben erwähnten Arbeiten stimmen mit dem Ergebnis der Untersuchung von Hanna et al. (1977 d) in steriler rekonstituierter Magermilch, bei der nach 3-minütiger Einwirkungsdauer von 60°C keine Yersinien (Beimpfungsmenge $10^6 - 10^7/\text{ml}$) mehr nachweisbar waren, überein. Die Autoren verwendeten zusätzlich zu den bereits in der angeführten Arbeit (Hanna et al. 1977 a) verwendeten Stämmen 1 Y. intermedia- und 1 Y. enterocolitica, Serotyp O:8, Biotyp I-Stamm (ATCC Nr. 9610) und weisen darauf hin, dass bei Erwärmung von Lebensmitteln auf über 60°C für einige Minuten, wenn überhaupt, nur wenige Yersinien überleben werden. Allerdings konnten sie beobachten, dass die pathogenen Y. enterocolitica-Stämme (ATCC Nr. 23715 und 9610) eine etwas stärkere Widerstandsfähigkeit gegenüber Temperaturen von 50°C bis 55°C zeigten als die 3 Y. intermedia-Stämme.

Auch Restaino et al. (1980) stellten in flüssigen Nährmedien fest, dass bei einer subletal wirkenden Temperatur von 47°C der Y. intermedia-Stamm eine höhere Empfindlichkeit als die 2 pathogenen Y. enterocolitica-Stämme (O:3 und O:9) aufwies.

In Nährbouillon wurde bei 79 Y. enterocolitica-Stämmen (davon 60 der Serotypen O:3, O:8, O:9) eine Inaktivierung der Keime nach 5-minütiger Erwärmung auf 60°C festgestellt (Heim et al. 1984).

Die Angaben über den D-Wert (dezimale Reduktionszeit) von Y. enterocolitica bei $62,8^\circ \text{C}$ in Milch schwanken bei Francis et al. (1980), die 21 Stämme untersuchten, zwischen 0,7 und 17,8 Sekunden und bei Lovett et al. (1982), die nur 3 Stämme untersuchten, zwischen 0,24 und 0,96 Minuten bzw. 14,4 und

57,6 Sekunden. Angaben darüber, ob auch pathogene Stämme untersucht wurden, sind jedoch nicht vorhanden. Zusätzlich geben letztere Autoren Z-Werte von 5,11° - 5,78° C an. Nach den Autoren beider Arbeiten wird *Y. enterocolitica* bei der Pasteurisation der Milch mit Sicherheit abgetötet.

II.4.1.2. Einfluss von Gefriertemperaturen

Auf gekochtem Rindfleisch, das mit 1 pathogenen *Y. enterocolitica*-Stamm (ATCC Nr. 23715) und 2 *Y. intermedia*-Stämmen zwischen 10^6 und 10^7 Yersinien/g kontaminiert und bei -18° bis -20° C gelagert wurde, war nach einer Lagerdauer von 4 Wochen eine deutliche Reduzierung der vermehrungsfähigen Yersinien um ca. 3 Zehnerpotenzen festzustellen. Bei einer Beimpfungsmenge von nur ca. 10^4 Yersinien/g liess sich nach 2-4 Wochen keiner der Stämme mehr nachweisen (Hanna et al. 1977 a).

Auch bei Kochschinken, der mit *Y. enterocolitica* (1 Stamm des Serotyps 0:3) in Höhe von ca. 5×10^3 /g beimpft und bei -10° C gelagert wurde, sank die Zahl der Yersinien bereits nach 1 Woche auf unter 50/g ab. Nach 3-wöchiger Lagerung konnte der Stamm jedoch noch reisoliert werden (Asakawa et al. 1979).

In rohem und gekochtem Garnelenfleisch führte die Lagerung bei -20° C während 60 Tagen zu einem Abfall der Yersinien (3 *Y. enterocolitica*-Stämme; je 1 Isolat vom Menschen, aus Schokoladenmilch und aus Garnelen), von 10^6 - 10^7 /g ausgehend, um 4-6 Zehnerpotenzen (Peixotto et al. 1979).

Im Gegensatz zu den bisher zitierten Arbeiten gibt es aber auch eine Reihe von Untersuchungen, bei denen die Gefriertemperaturen nur einen geringen Einfluss auf die Yersinien zeigten.

Leistner et al. (1975) stellten bei Versuchen mit Gefrierhähnchen während 90-tägiger Lagerung bei -18° C nur eine ge-

ringe Abnahme der vermehrungsfähigen Yersinien fest, ohne dass die Autoren Angaben über Ausgangs- und Endkeimzahlen machen.

In küchenfertig zubereitetem Brathuhn und verschiedenen gekochten Produkten, wie Eiern, Fisch, Reis und Kartoffeln mit ca. 10^3 Yersinien/g (je 1 Stamm der Serotypen O:3 und O:9) war auch nach einer Lagerung von 8-9 Wochen bei -20°C der Yersiniengehalt etwa gleich hoch wie zum Zeitpunkt der Beimpfung (Kendall und Gilbert 1980).

In Eieinschlagmasse, die mit 2 Y. enterocolitica-Stämme (O:3 und O:9) zwischen 10^5 und 10^7 Yersinien/g beimpft und bei -24°C gelagert wurde, war nach 10 Wochen nur eine geringe Abnahme der Yersinien zu verzeichnen (Heim et al. 1985).

In gefrorenem Hackfleisch (-18°C), welches zuvor mit Y. enterocolitica (1x O:3 und 1x O:9) zwischen 10^5 und 10^8 /g kontaminiert wurde, kam es nach 24-tägiger Lagerung nur in den Proben mit dem Serotyp O:3 zu einem geringen Abfall (um 1-2 Zehnerpotenzen) und auch nach 7 Wochen war keine wesentliche Reduzierung der Yersinien feststellbar (Heim et al. 1985).

II.4.1.3. Einfluss tiefer und hoher pH-Werte

Stern et al. (1980) konnten bei 4 Y. enterocolitica-Stämmen (2 klinische und 2 Umwelt-Stämme) in Bouillonkultur mit den pH-Werten 4,4 und 9,6 (3°C) bzw. 10,0 (25°C) einen bakteriziden Effekt beobachten. Dieser bewirkte eine Reduzierung der Yersinien um 1-2 Zehnerpotenzen während 2 (25°C) bzw. 10-tägiger Bebrütung (3°C).

Von Kendall und Gilbert (1980) wurde bei 2 getesteten Stämmen (O:3 und O:9) in gepufferter Bouillon bei pH-Wert 3,6 oder darunter eine rapide Abnahme der Keime festgestellt. Innerhalb von 48 Stunden bei 22°C sanken die Yersinienzahlen von ca. 5×10^3 /ml auf unter 10^2 /ml ab.

In Trypticase-Soja-Bouillon (TSB), Mayonnaise, Salat-Dressing und Tartar-Sauce mit pH-Werten zwischen 3,0 und 4,0 verzeichnete Brackett (1986) bei 3 *Y. enterocolitica*-Stämmen (2x 0:8, 1x 0:3) eine keimabtötende Wirkung. Betrug die Bebrütungstemperatur 21° bzw. 25° C (TSB), so wurden die Yersinien stärker als bei 5° C reduziert. Während in der Mayonnaise (pH 3,8) von ca. 10^6 /g bei 21° C nach 1 Tag und bei 5° C nach 2 Tagen noch bis zu 10^2 Yersinien/g vorhanden waren, konnten die Stämme aus den anderen beiden Produkten (pH 3,2 und 3,4) bereits unmittelbar nach der Inokulation nicht mehr reisoliert werden. In TSB mit pH 3,0 sanken die Keime bei 5° C erst nach 14-tägiger Lagerung um 4 Zehnerpotenzen ab und bei 25° C war der gleiche Abfall bereits innerhalb von 2 Stunden vorhanden.

Die Ueberlebensfähigkeit von *Y. enterocolitica* (0:9) in Joghurt mit unterschiedlichem pH-Verlauf untersuchten Mantis et al. (1982). Sank der pH-Wert nur langsam, in einem Zeitraum von 24 Stunden, von 6,6 auf 4,6 ab, so war erst nach 5- bis 7-tägiger Lagerung bei 4° C ein Absinken der Yersinienzahlen von 5×10^4 bis 2×10^6 /g auf unter 50/g vorhanden. Bei schnellem Abfall von pH 6,6 auf pH 4,3 innerhalb von 4 Stunden lagen die Werte schon nach 12 bis 48 Stunden unter der Nachweisgrenze.

Das Verhalten von *Y. enterocolitica*-0:9 in Feta-Käse beobachteten Karaioannoglou et al. (1985). Bei einer schnellen pH-Senkung auf 4,6 wurden innerhalb von 2-4 Tagen nach der Dicklegung die Yersinien-Ausgangszahlen von 10^3 - 10^8 /g um 1-6 Zehnerpotenzen reduziert, und je nach Ausgangs-Yersinienzahl waren nach 3-5 Tagen keine vermehrungsfähigen Yersinien mehr nachweisbar. Bei langsamem und nur geringem pH-Abfall auf 5,5 - 5,3 konnten sich die Keime um 2-6 Zehnerpotenzen vermehren. Nach 30-tägiger Lagerung (4° C) waren noch 10^4 - 10^8 Yersinien/g vorhanden.

Moustafa et al. (1983 b) verfolgten die Entwicklung von *Y. enterocolitica*-0:3 und -0:8 in Colby-ähnlichem Käse. Der pH-Wert betrug vor dem Pressen 5,9 - 5,2 und nach dem Pres-

sen (ca. 16 Stunden) 5,3 - 5,0. Während des Herstellungsprozesses konnten sich die Yersinien in den ersten Stunden um 3 Zehnerpotenzen auf ca. 10^6 /g vermehren. Bei der anschliessenden Lagerung bei 3° C kam es dann zur Abnahme der Keimzahl: nach 7 Wochen sank der Serotyp 0:3 auf unter 10 Yersinien/g und der Serotyp 0:8 auf 10^2 - 10^3 Keime/g ab. Die Autoren betonen die Wichtigkeit der pH- Einstellung zur Verminderung der Vermehrung und Ueberlebensfähigkeit von *Y. enterocolitica*.

II.4.2. Vermehrung von *Y. enterocolitica*

II.4.2.1. Einfluss der Temperatur und Begleitflora

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass *Y. enterocolitica* in der Lage ist, sich noch bei Kühltemperaturen von 0° - 2° C zu vermehren (Hanna et al. 1977 e, Heim et al. 1984, Leistner et al. 1975, Peixotto et al. 1979) während andere pathogene Enterobakteriazeen, z.B. Salmonellen, erst ab 5° C Wachstum zeigen (Troller 1980 u.a.).

In Nährbouillon mit einer Temperatur von 0,5° C konnten sich von 79 *Y. enterocolitica*-Stämmen, davon 60 Stämme der Serotypen 0:3, 0:8 und 0:9, nach 8 Tagen 55 Stämme vermehren und bei 3,5° C vermehrten sich alle Stämme innerhalb von 6 Tagen (Heim et al. 1984).

Auch in autoklavierter Schweinefleischsuspension, die eine Temperatur von 0° - 1° C aufwies, kam es nach Leistner et al. (1975) zu einer Vermehrung der inokulierten *Y. enterocolitica*-Stämme. Der Anstieg betrug nach 4 Wochen ca. 5 Zehnerpotenzen (von 10^3 auf 10^8 /ml), und bei einer Lagertemperatur von 4° C war der gleiche Anstieg bereits nach 2 Wochen erreicht. Die Autoren verwendeten bei ihren Versuchen *Y. enterocolitica*-Pools, je 9-10 Stämme, entweder Eigenisolate oder Referenzstämme, ohne jedoch nähere Angaben über diese zu machen.

Auf rohem Rindfleisch, das unter sterilen Kautelen gewonnen wurde, stellten Hanna et al. (1977 e) bei 0° und 1° C eine Vermehrung der Yersinien um 1 Zehnerpotenz (von ca. 10^3 auf ca. 10^4 /g) innerhalb 1 Woche und um 2 Zehnerpotenzen (auf ca. 10^5 /g) nach 2 Wochen fest. Die Autoren verwendeten 3 Stämme, 1 pathogenen und 2 apathogene, die bereits im Teil II.4.1.1. beschrieben wurden.

Bei Kochschinken, der vor Versuchsbeginn einer 15-minütigen UV-Bestrahlung unterzogen worden war, beobachteten Asakawa et al. (1979) bei 1 Y. enterocolitica 0:3-Stamm und 0° C innerhalb von 2 Wochen keine Vermehrung.

Peixotto et al. (1979) untersuchten die Vermehrung von Y. enterocolitica in Schalen- und Krustentieren unter Verwendung von 2 offensichtlich pathogenen Stämmen (ATCC Nr. 23715 von einem Bakteriämiepatienten; Nr. 2635 aus Schokoladenmilch) sowie 3 nicht näher bestimmten Stämmen. Bei 0° - 2° C konnten sie innerhalb 3-wöchiger Lagerung eine Vermehrung um 1 Zehnerpotenz nachweisen.

Bei einer Temperatur von 4° C führten nach Leistner et al. (1975) die verwendeten Y. enterocolitica-Stämme innerhalb von 7 Tagen zum Verderb von Frischhähnchen und aseptisch gewonnenem Schweinehackfleisch. Angaben über die Ausgangs- und Endkeimzahlen der Yersinien sowie der Begleitflora liegen jedoch nicht vor.

Heim et al. (1985) und Heinrich (1985) führten Untersuchungen mit Y. enterocolitica-Stämmen der pathogenen Serotypen 0:3 und 0:9 durch. Sie beimpften Hackfleisch, das eine aerobe Gesamtkeimzahl zwischen 10^6 und 10^8 /g aufwies, mit Y. enterocolitica zwischen 10^2 und 10^7 /g. Bei einer Lagerungstemperatur von 4° C konnte keine Vermehrung der Stämme beobachtet werden. Allerdings betrug die Versuchsdauer bei Heinrich nur 3 Tage und bei Heim et al. nur 24 Stunden. Heim et al. berichten sogar, dass innerhalb der 24 Stunden bei 2 der 4 Proben ein Abfall der Yersinien um 1-2 Zehnerpotenzen eingetreten sei.

Auf unter sterilen Kautelen gewonnenem rohem Rindfleisch konnten sich die Yersinien bei 5° C nach 10 Tagen um 2-3 Zehnerpotenzen anreichern (Hanna et al. 1977 e).

Auf Kochschinken (5° C) konnte sich 1 pathogener Stamm (0:3) innerhalb 1 Woche von 5×10^3 /g auf 10^5 /g und nach 2 Wochen auf 10^8 /g vermehren (Asakawa et al. 1979).

In vakuumverpackter Brühwurst nach Bologna-Art konnte sich 1 Serotyp 0:3-Stamm, sofern keine Begleitflora vorhanden war, bei 5° C innerhalb von 4 Wochen um 6 Zehnerpotenzen vermehren. Wurden gleichzeitig Laktobazillen zugegeben, so unterblieb die Entwicklung der Yersinien (Nielsen und Zeuthen 1985 a).

Eine Hemmung der Yersinien durch Milchsäurebakterien bei 4° C beobachteten auch Karaioannoglou et al. (1985) und Mantis et al. (1984) in Käse und Joghurt.

Peixotto et al. (1979) prüften das Wachstum von *Y. enterocolitica* bei 3° - 5° C in Garnelen und Krabben. In rohen und gekochten Garnelen kam es bei 3° - 5° C während 21-tägiger und in gekochten Krabben bei 5° C während 14-tägiger Lagerung zu einem Anstieg von 1 bis 4 Zehnerpotenzen.

In verschiedenen erhitzten Lebensmitteln (küchenfertig zubereitetes Brathuhn, gekochte Eier, Fisch, Reis und Kartoffeln) konnte sich je 1 Stamm des Serotyps 0:3 und 0:9 bei 4° C gut vermehren und führte zu einem Anstieg der Yersinien um ca. 6 Zehnerpotenzen nach 10-tägiger Lagerung (Kendall und Gilbert 1980).

Bei homogenisierter Eieinschlagmasse aus Vollei (Heim et al. 1985), die mit *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 beimpft wurde, kam es in 2 von 4 Proben (beide mit dem Serotyp 0:3) zu einem Abfall der Yersinien um über 1 Zehnerpotenz innerhalb 24-stündiger Lagerung bei 4° C.

In Rohmilch mit einem aeroben Gesamtkeimgehalt von 10^5 /g konnten sich 2 *Y. enterocolitica*-Stämme (0:3 und 0:9) bei 4° C während 24-stündiger Lagerung nicht vermehren (Heim et al. 1985). In pasteurisierter bzw. in ultrahocherhitzter

Milch hingegen führte das Wachstum zweier *Y. enterocolitica*-Stämme, ebenfalls 0:3 und 0:9, bei gleicher Lagertemperatur und -dauer zu einem Yersinienanstieg um ca. 0,5 resp. 1-2 Zehnerpotenzen. Nach 9 - 10-tägiger Lagerung konnten sich die beiden Stämme (3/ml bis 10^6 /ml Ausgangskeimzahl) auf 10^8 - 10^9 /ml vermehren (Heinrich 1985).

Auch in Sojabohnen-Produkten, wie Tofu und Tempeh (ein fermentiertes Sojaprodukt), ist die Vermehrung von *Y. enterocolitica* beobachtet worden. Zwei Stämme der Serotypen 0:3 und 0:8 erreichten in beiden Produkten bei 5° C während 2-wöchiger Lagerung Anstiege um 4 - 6 Zehnerpotenzen bei Beimpfungsmengen von ca. 10^2 Yersinien/g (Kovats et al. 1984, Tanaka et al. 1985).

Bei 6° C führten Fukushima (1986) sowie Fukushima und Gomyoda (1986) Versuche mit Hackfleisch durch. In künstlich kontaminiertem Hackfleisch (Fukushima und Gomyoda 1986) konnte beim geprüften *Y. enterocolitica*-Stamm des Serotyps 0:3 erst nach 12-tägiger Lagerung eine Vermehrung um ca. 1 Zehnerpotenz festgestellt werden, jedoch nur, wenn die Ausgangs-Yersinienzahlen 10^5 /g und mehr betrug. Die aeroben Ausgangs-Gesamtkeimzahlen lagen dabei zwischen 10^6 und 10^8 /g. Demgegenüber beobachteten sie eine Vermehrung der als Umwelt-Yersinien bezeichneten Keime (*Y. enterocolitica*-Biotyp I, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*) um bis zu 6 Zehnerpotenzen. Auch in mit *Y. enterocolitica* 0:3 natürlich kontaminiertem Hackfleisch (Fukushima 1986) konnten sich während 3-wöchiger Lagerung nur die sog. Umwelt-Yersinien um bis zu 4 Zehnerpotenzen anreichern.

Auf rohem und gekochtem Rind- und Schweinefleisch (Hanna et al. 1977 e) kam es bei einer Lagertemperatur von 7° C nach 5 Tagen zu einem Anstieg der Yersinien (2 pathogene und 3 apathogene Stämme) um ca. 4 Zehnerpotenzen.

In rohen Austern vermehrte sich *Y. enterocolitica* (humanes Isolat) im Temperaturbereich von 5° - 7° C während 2-wöchiger Lagerung um 1 Zehnerpotenz (Peixotto et al. 1979).

Bei 8° C kam es nach Nielsen und Zeuthen (1985 a) auf vakuumverpackter Brühwurst auch in Anwesenheit von Laktobazillen innerhalb von 2 Wochen zu einem Anstieg der Yersinien um 1 (0:9) bis 2 (0:3) Zehnerpotenzen.

Ueber den Temperaturbereich von 10° - 12° C liegen Angaben von Asakawa et al. (1979), Kovats et al. (1984), Nielsen und Zeuthen (1985 a) sowie Tanaka et al. (1985) vor. Auf Kochschinken betrug die Vermehrung bei 10° C bereits nach 1 Woche ca. 3,5 Zehnerpotenzen. Auf vakuumverpackter Brühwurst, die gleichzeitig Laktobazillen enthielt, betrug der Anstieg der Yersinien bei 10° C 3,5 und bei 12° C über 7 Zehnerpotenzen innerhalb 3-wöchiger Lagerung. In Tofu und Tempeh konnten sich die Yersinien bei 10° C innert 14 Tagen um ca. 6,5 - 7,5 Zehnerpotenzen anreichern.

Ein wesentlich besseres Wachstum von *Y. enterocolitica* ist bei Temperaturen von 15° - 30° C festzustellen. Für diesen Temperaturbereich wurden Versuche mit Bouillonkulturen (Brackett 1986, Stern et al. 1980), Fleisch und Fleischerzeugnissen (Asakawa et al. 1979, Fukushima und Gomyoda 1986, Hanna et al. 1977 e, Kendall und Gilbert 1980, Leistner et al. 1975), Eieinschlagmassen und Rohmilch (Heim et al. 1985), gekochten Eiern, Fisch, Reis und Kartoffeln (Kendall und Gilbert 1980) sowie Tofu und Tempeh (Kovats et al. 1984, Tanaka et al. 1985) durchgeführt. Eine konkurrierende Begleitflora kann auch bei diesen günstigen Temperaturen die Entwicklung der Yersinien hemmen. Eine entsprechende pH-Senkung durch Milchsäurebakterien kann aber auch zum Absterben der Yersinien führen, wie die Versuche von El-Nawawy et al. (1986) an Magermilch sowie von Heim et al. (1985) und Rae-vuori et al. (1979) an Rohwurst zeigen.

Der obere Grenzwert für die Vermehrung von pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen (0:3, 0:8, 0:9) in Bouillon liegt nach Heim et al. (1984) bei 42° C.

II.4.2.2 Einfluss des pH-Wertes

In Abhängigkeit von pH-Wert und Temperatur kommt es zu unterschiedlichem Wachstum von *Y. enterocolitica*. Die meisten Untersuchungen wurden mit Bouillonkulturen durchgeführt (Brackett 1986, Hanna et al. 1977 a, Heim et al. 1980, Kendall und Gilbert 1980, Stern et al. 1980).

Bei 1 *Y. enterocolitica*-Stamm (ATCC Nr. 23715) und 2 *Y. intermedia*-Stämmen konnte von Hanna et al. (1977 a) bei 25° C und pH 5,0 noch kein Keimanstieg verzeichnet werden und bei pH 6,0 und 9,0 verlief die Vermehrung der Yersinien (ca. 3 Zehnerpotenzen) deutlich geringer als bei pH 7,0 und 8,0 (ca. 6 Zehnerpotenzen).

Nach Stern et al. (1980) liegt der Bereich für die Vermehrung zwischen pH 4,6 und 9,0 (3° C) bzw. 9,6 (25° C). 2 geprüfte Stämme aus klinischem Material zeigten eine etwas grössere pH-Toleranz als 2 Umwelt-Stämme.

In den Untersuchungen von Brackett (1986) konnte sich *Y. enterocolitica* (2x 0:8, 1x 0:3) bei 5° C und pH 5,0 nicht vermehren, während bei 25° C die 2 Serotyp 0:8-Stämme bereits bei pH 4,5 einen Anstieg zeigten.

Heim et al. (1980) führten ihre Versuche mit 74 *Y. enterocolitica*-Stämmen (hauptsächlich Serotyp 0:3) bei 30° C durch. Als Grenzwert für das Wachstum im sauren Bereich wurde pH 4,8 ermittelt.

Von Kendall und Gilbert (1980), die 2 *Y. enterocolitica*-Stämme (0:3 und 0:9) prüften, konnte bei 22° C der pH-Bereich zwischen 4,2 und 4,4 als Grenze zwischen Hemmung und Wachstum ermittelt werden.

Ueber den Einfluss des pH-Wertes auf die Vermehrung von Yersinien auf Fleisch berichtet Grau (1981). Er beimpfte Rindfleisch mit pH-Werten zwischen 5,4 und 6,2 mit 10^4 Keimen/g eines *Y. enterocolitica*-Stammes, der nach der heutigen Nomenklatur *Y. intermedia* zuzuordnen ist. Bei der anschließenden Lagerung des Fleisches unter aeroben wie auch unter

anaeroben Verhältnissen bei 5° C stellte er fest, dass sich die Keime bei pH-Werten zwischen 5,4 und 5,85 nur bei aerober Lagerung auf ca. 10^8 Keime/g nach 2 Wochen vermehren konnten. Bei pH 6,0 - 6,2 wurde die gleiche Keimzahl auch bei anaerober Lagerung erreicht. In gepufferten Bouillon mit einem pH-Wert von 5,55 und einer Milchsäurekonzentration von 100 mMol, entsprechend dem Gehalt in der Muskulatur mit den niedrigen pH-Werten, wuchsen die Keime ebenfalls nur bei aerober Bebrütung.

Auf DFD (Dark-Firm-Dry)-Fleisch mit pH-Werten von 6,3 - 6,6 erreichte *Y. enterocolitica* (ohne nähere Angaben) um 2 Zehnerpotenzen höhere Keimzahlen als auf normalem Fleisch mit pH-Werten von 5,5 - 5,7 (Gill und Newton 1979, Seelye und Yearbury 1979).

II.4.2.3. Einfluss von NaCl und Nitrit

Stern et al. (1980) konnten an 4 *Y. enterocolitica*-Stämmen (2 klinische und 2 sog. Umwelt-Stämme) in Bouillon mit 7% Kochsalz einen bakteriostatischen oder bakteriziden Effekt feststellen. Dieser Salzgehalt bewirkte dabei in der Bouillon eine Wasseraktivität (a_w -Wert) von 0,945. Bei einer Konzentration von 9% NaCl war bei allen Stämmen eine bakterizide Wirkung zu verzeichnen. Die Autoren weisen darauf hin, dass bei den 2 klinischen Stämmen eine grössere Kochsalztoleranz als bei den ubiquitär vorkommenden Stämmen zu beobachten war.

Im Vergleich zu obigen Angaben zeigten in den Untersuchungen von Heim et al. (1980) bei 7% Kochsalz 49 von 79 *Y. enterocolitica*-Stämmen (in der Mehrzahl Serotyp 0:3) ein Wachstum. Erst bei 9% NaCl wurden sämtliche Stämme vollkommen gehemmt. Der Einfluss von Kochsalz auf die Entwicklung von *Y. enterocolitica* (2 Stämme des Serotyps 0:3 und 1 Stamm des Serotyps 0:9) in vakuumverpackter Brühwurst nach Bologna-Art wurde

von Nielsen und Zeuthen (1985 b) untersucht. Die Wurst wurde mit NaCl-Konzentrationen von 2, 2,8 und 3,5% (entspricht bezogen auf den Wassergehalt 3,6, 4,7 und 6,4%) hergestellt. Die Brühwürste wurden aufgeschnitten, mit Yersinien (ca. 50/g) beimpft, vakuumverpackt und bei Temperaturen von 2° bis 12° C bis zu 4 Wochen gelagert. Bei einem Kochsalzgehalt von 3,5% war das Wachstum der Yersinien bei allen Temperaturen vollkommen unterdrückt, während bei 2% NaCl auch noch bei 2° C eine Vermehrung der Keime vorhanden war.

Heim et al. (1984) untersuchten den Einfluss von Nitrit und von Nitrit in Kombination mit Kochsalz (Nitritpökelsalz) in Abhängigkeit vom pH-Wert in Bouillon auf 40 *Y. enterocolitica*-Stämme (in der Mehrzahl Serotyp 0:3). Bei pH 5 reichten 100 ppm Nitrit (100 mg/l) aus, um ca. 2/3 der Stämme zu hemmen, während bei pH 6 erst 500 ppm eine Wirkung zeigten. Bei pH 7 war auch durch 500 ppm Nitrit keine Hemmung zu verzeichnen. In Versuchen mit 2%, 6% und 10% Nitritpökelsalz (entspricht 100, 300 und 500 mg Nitrit) wurden bei 2% Nitritpökelsalz die meisten Stämme erst bei pH 5 gehemmt. 10% Nitritpökelsalz konnte dagegen auch bei pH 7 sämtliche Stämme in ihrem Wachstum unterdrücken.

Auch in Rohwürsten wird Nitrit bzw. Nitritpökelsalz eine Hemmwirkung auf *Y. enterocolitica* zugeschrieben (Heim et al. 1985, Raevuori et al. 1979). Heim et al. (1985) weisen jedoch darauf hin, dass als Ursachen für das Absterben der Yersinien während der Räucherung und Lagerung vor allem die Rohwurstflora, der sinkende pH-Wert und der steigende Salzgehalt, der durch den Wasserverlust bedingt ist, anzusehen sind.

In autoklaviertem Schweinefleisch, das 3% Kochsalz oder 0,0156% Natrium-Nitrit enthielt, wurden 2 *Y. enterocolitica*-Stämme (0:3 und 0:8), im Vergleich zu Kontrollproben ohne Kochsalz oder Nitrit, um ca. 3 Zehnerpotenzen gehemmt (Racach und Henningsen 1984).

II.4.2.4. Einfluss reduzierter Sauerstoffspannung

Bei kühlgelagertem Fleisch konnte von Hanna et al. (1977 b) beobachtet werden, dass die Verpackungsart einen Einfluss auf die Vermehrung von *Yersinien* ausübt. Sie verwendeten bei den Untersuchungen einen *Y. enterocolitica*-Stamm (ATCC Nr. 23715) und zwei *Y. intermedia*-Stämme. Auf Rindersteaks, die mit $10^2 - 10^3$ *Yersinien*/cm² beimpft und entweder in einer Vakuumpackung oder in einer sauerstoffdurchlässigeren PVC-Folie ohne Vakuum bei 1°, 2,5° und 5° C bis zu 5 Wochen gelagert wurden, kam es in den PVC-Verpackungen zu einer deutlich stärkeren Vermehrung als in den Vakuumpackungen mit O₂-undurchlässigerer Folie. Während sich die Stämme bei 1° C in den Vakuumpackungen nicht vermehren konnten, betrug der Anstieg in den PVC-Verpackungen nach 3-wöchiger Lagerung 2 - 4 Zehnerpotenzen. Bei 2,5° und 5° C und gleicher Lagerdauer konnten sich die *Yersinien* zwar auch in den Vakuumpackungen vermehren (um 1 - 2 Zehnerpotenzen), jedoch geringer als in den PVC-Verpackungen (um 3 - 4 Zehnerpotenzen). Ebenso lagen die Werte für die aerobe Gesamtkeimzahl in den Vakuumpackungen deutlich tiefer als in den PVC-Verpackungen.

Auch Gill und Tan (1980) verzeichneten bei Fleisch, das unter modifizierter Atmosphäre (20% CO₂, 80% Luft) bei 3° C gelagert wurde, eine Verlängerung der Generationszeit von *Y. enterocolitica* (ohne nähere Angaben) um den Faktor 1,3 gegenüber einer Aufbewahrung unter natürlicher Atmosphäre.

In den Versuchen von Grau (1981) konnte sich ein *Yersinia*-Stamm, der nach der heutigen Nomenklatur *Y. intermedia* zuzuordnen ist, auf Fleisch mit pH-Werten zwischen 5,4 und 5,85 nur bei aerober und nicht bei anaerober (N₂-Begasung) Lagerung vermehren.

II.5. Vorkommen von *Y. enterocolitica* auf Schweinetonsillen

Über die erfolgreiche Isolierung von *Y. enterocolitica* von Schweinetonsillen berichten verschiedene Autoren. Da in Europa nur den Serotypen 0:3 und 0:9 eine humanmedizinische Bedeutung zukommt, sind die Untersuchungsmethoden der einzelnen Autoren z.T. nur auf diese beiden Serotypen abgestimmt worden. In Tabelle 5 sind die vorliegenden Literaturangaben zusammengestellt.

Christensen (1980 b) und Nesbakken (1985) berücksichtigten bei ihren Untersuchungen nur den Serotyp 0:3 und Stengel (1983), Weber und Knapp (1981), Weber und Lembke (1981) sowie Weber et al. (1983) die Serotypen 0:3 und 0:9. Auch auf andere *Y. enterocolitica*-Serotypen untersuchten Bockemühl und Roth (1978), Hanna et al. (1980) und Pedersen (1979); sie fanden jedoch nur den Serotyp 0:9 bzw. 0:5 resp. 0:3. Ueber die Isolierung verschiedener *Y. enterocolitica*-Serotypen berichten Narucka und Westendoorp (1977), die neben 0:3, 0:9 und 0:5,27 noch 4 weitere Serotypen nachwiesen. Auch Nesbakken und Kapperud (1985) konnten ausser *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:5,27 sechs andere Serotypen und zusätzlich *Y. intermedia* und *Y. kristensenii* isolieren. In den von De Boer et al. (1986) untersuchten Tonsillen wurden neben *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 ebenfalls andere *Yersinien* gefunden.

In Europa schwanken die Isolierungsraten für den Serotyp 0:3 zwischen 1 und 59,6% und für den Serotyp 0:9 zwischen 1,9 und 18,2% (Bockemühl und Roth 1978, Christensen 1980 b, De Boer et al. 1986, Narucka und Westendoorp 1977, Nesbakken 1985, Nesbakken und Kapperud 1985, Pedersen 1979, Stengel 1983, Weber und Knapp 1981, Weber und Lembke 1981, Weber et al. 1983). Der Serotyp 0:5,27 wurde in einer Häufigkeit von 0,2 bis 0,6% gefunden (Narucka und Westendoorp 1977, Nesbakken und Kapperud 1985). Angaben über die Häufigkeit nichtpathogener Serotypen sowie anderer *Yersinia*-Spezies sind selten. Nesbakken und Kapperud (1985) wiesen bei 43,4% der untersuchten Tonsillen *Yersinien* und bei 31,7% *Y. enterocolitica* Serotyp 0:3 nach. In den Untersuchungen von De Boer et al. (1986)

liessen sich aus 72,5% der Tonsillen Yersinien, jedoch nur aus 17,5% pathogene *Y. enterocolitica*-Stämme (0:3 und 0:9), isolieren.

Nach Christensen (1980 b) variiert das Vorkommen von *Y. enterocolitica* nicht nur von Land zu Land sondern auch innerhalb eines Landes. Unterschiedliche Isolationen seien nicht nur von der Art der untersuchten Probe und der Untersuchungsmethode abhängig sondern auch von der Verteilung in den Beständen.

Auch jahreszeitliche Schwankungen sind beobachtet worden. So gelangen Weber und Knapp (1981) die meisten Isolierungen der Erreger in den Wintermonaten November und Dezember, während die Nachweisquote in den wärmeren Monaten niedriger war.

II.6. Vorkommen von *Y. enterocolitica* in Fleisch und Fleischzubereitungen

Die Angaben aus der Literatur sind in den Tabellen 6-11 zusammengefasst.

Ähnlich wie bereits bei den Tonsillenuntersuchungen beschrieben weichen auch hier die Angaben der Autoren über die Isolierungsraten stark voneinander ab. Zum Teil wurden wiederum nur die Serotypen 0:3 und 0:9 bei den Untersuchungen berücksichtigt oder es werden keine Angaben über das Vorkommen und die Häufigkeit der einzelnen *Y. enterocolitica*-Serotypen bzw. *Yersinia*-Spezies gemacht.

So sind 1030 Proben von Schweineezungen (Tabelle 6) auf *Y. enterocolitica* untersucht worden, von denen insgesamt 245 pathogene *Y. enterocolitica*-Stämme enthielten. Der Serotyp 0:3 wurde dabei am häufigsten (228 Proben) nachgewiesen. Dies entspricht den zahlreichen Isolierungen von *Y. enterocolitica* 0:3 von Schweinetonsillen, was durch den engen anatomischen Kontakt zwischen Zunge und Mandeln zu erklären ist. Allerdings wurde der Serotyp 0:9 von Tonsillen häufiger isoliert als von Zungen.

Betrachtet man dagegen die Häufigkeit des Vorkommens pathogener *Y. enterocolitica*-Stämme in Schweinefleisch (Tabelle 7), so wurden diese nur relativ selten gefunden. Von insgesamt 1384 untersuchten Proben waren lediglich in 19 Proben pathogene Serotypen nachweisbar. Hier überwog sogar *Y. enterocolitica* 0:9 mit 8 Proben. Ueber die Isolierung von 0:5,27 aus Schweinefleisch berichten Kaneko et al. (1985), die die Serotypen 0:3 und 0:5,27 in 3 Proben nachwiesen. Von Myers et al. (1982) wird nur der Nachweis von *Y. enterocolitica* aus 3 von 54 Proben angegeben, ohne den Bio- oder Serotyp zu nennen.

In Rind- und Schafffleisch (Tabelle 8) liessen sich bei 428 Proben sogar nur in 2 pathogene Stämme (0:3 und 0:8) nachweisen. Zwar berichten Aldova et al. (1981) und Greenwood und Hooper (1985) ebenfalls über die erfolgreiche Isolierung von *Y. enterocolitica* 0:8 bzw. 0:5,27 aus Fleisch, ohne je-

doch die Tierart und die Anzahl untersuchter Proben anzugeben.

Auch bei der Untersuchung von Geflügelfleisch (Tabelle 9) konnten nur vereinzelt pathogene Serotypen nachgewiesen werden. Guthertz et al. (1976) machen keine Angaben über den Bio- oder Serotyp der von ihnen isolierten Stämme und Kaneko et al. (1985) geben wiederum nur das Vorkommen von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:5,27 zusammen an, obwohl nur 1 Probe positiv war.

Die Zahl der Isolierungen pathogener *Y. enterocolitica*-Serotypen aus Fleischzubereitungen (Tabelle 10 und 11), die entweder nur aus Rind- oder Schweinefleisch bestehen oder einen grossen Anteil an Schweinefleisch enthalten, ist ebenfalls gering. Lediglich Breuer und Kniewallner (1985) sowie Fukushima (1985) konnten aus 12 bzw. 4% der mit resp. aus Schweinefleisch hergestellten Hackfleischproben den Serotyp 0:3 isolieren. Und Beumer et al. (1983) wiesen sogar in 19% der untersuchten Hackfleischzubereitungen (Filet Américain), welche unter Verwendung einer Spezielsauce (Salatöl, Eidotter, Essig, Salz, Gewürze) hergestellt werden, die pathogenen Serotypen 0:3, 0:9 und 0:5,27 nach.

Zusammenfassend sind nach den in den Tabellen 7-11 zusammengestellten Literaturangaben 6298 Proben Fleisch und Fleischzubereitungen (ohne Schweinezeugen) auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* untersucht worden. Dabei konnte der Serotyp 0:3 in 49 Proben, der Serotyp 0:9 in 25 Proben und die Serotypen 0:8 und 0:5,27 in 5 resp. 13 Proben nachgewiesen werden. Zusätzlich zu diesen Angaben wurden die Serotypen 0:3, 0:8 und 0:5,27 vereinzelt noch aus anderen, zahlenmässig nicht bekannten, Proben isoliert. Die Kontaminationsraten von Fleisch und Fleischzubereitungen mit pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen sind allgemein, bis auf die wenigen oben beschriebenen Ausnahmen, sehr gering.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

III.1. **Material und Methoden**

III.1.1. Probenherkunft und -aufarbeitung

III.1.1.1. Tonsillen

Von 50 Schweineköpfen, die zum Ausbeinen bestimmt waren, wurden im März und Oktober 1985 am Schlachthof Winterthur die Gaumensegelfmandeln (Tonsillae veli palatini) unter sterilen Kautelen entnommen, in sterile Plastiksäcke verpackt und in einer Kühlbox bei ca. 4° C ins Labor transportiert. Dort erfolgte die Zerkleinerung der Tonsillen mit einem Haushaltszerkleinerungsgerät mit rotierendem Messer (Moulinex) für ca. 10-15 Sekunden. Anschliessend wurde das zerkleinerte Material je nach Menge (15-20 g) mit Trypticase-Soja-Bouillon (TSB) der Firma BBL im Verhältnis 1:10 verdünnt und mit einem Stomacher (Lab-Blender 400) der Firma Seward, London, während 2 Minuten homogenisiert.

III.1.1.2. Fleischhalbfabrikate

Die Untersuchung von 125 rohen Brätproben, die unter Verwendung von Schweinefleisch hergestellt und z.T. in Därme abgefüllt waren, erfolgte in der Zeit von April bis Juli 1985. Es handelte sich um 45 Schweinsbratwurst-, 20 Bauernbratwurst-, 20 Adrio-, 20 Saucisson- und 20 Luganiga-Proben. Sie stammten von 82 Metzgereien aus verschiedenen Regionen der Schweiz, die im Rahmen einer Hygienekontrolle regelmässig Proben an das Labor einsenden, sowie aus zwei Lebensmittelgeschäften der Stadt Zürich. Die von den Metzgereien eingesandten Proben befanden sich in gekühlten Isolierboxen (1°-4° C). Die in den Lebensmittelgeschäften gekauften Proben wurden ebenfalls gekühlt transportiert. Jeweils 20 g des Untersuchungsmaterials wurden mit 180 ml TSB im Stomacher 2 Min. homogenisiert.

III.1.1.3. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch

Es wurden 2 Y. enterocolitica-Stämme (0:3 und 0:9) verwendet, die aus Stuhlproben von Enteritis-Patienten stammten. Die Anzüchtung der Kulturen erfolgte in TSB bei 25° C während ca. 18 h mit anschliessender Ueberimpfung in TSB und erneuter Inkubation bei 25° C (ca. 24 h). Dann wurden die Keime abzentrifugiert, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (ca. 10^9 Yersinien/ml) und für die Beimpfung der Proben über eine dekadische Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10^5 /ml verdünnt.

Die Brätherstellung erfolgte in einem Klein-Kutter (Cut-0-Mat der Firma Kneubühler, Luzern) mit einem Fassungsvermögen von 10 Litern.

Die Rezeptur des Luganigabrätes setzte sich wie folgt zusammen:

Schweinefleisch (halbmager)	1'000 g
Nitritpökelsalz	22 g
Mischgewürz	5 g
Knoblauch	0,5 g

Das vorgeschnittene Fleisch wurde im Cut-0-Mat bei niedrigem Tourengang sehr grob vorzerkleinert; dann erfolgte die Zugabe der Gewürze, des Nitritpökelsalzes sowie der Yersinien-suspension (10^5 /ml), und zwar 10 ml/kg Brät. Anschliessend wurde das Brät auf langsamer Stufe bis auf eine Korngrösse von 3 bis 4 mm zerkleinert und durchmischt.

Das Kalbsbratwurstbrät wurde aus folgenden Ausgangsmaterialien hergestellt:

Kalbfleisch (mager)	500 g
Schweinefleisch (mager)	500 g
Speck	700 g
Schwartenblock	200 g
Eis	600 g
Milchpulver	60 g
Kochsalz	40 g
Mischgewürz	10 g
Phosphat	4 g

Das Fleisch, der Speck und der Schwartenblock waren vor der Verwendung 6 Monate bei -18°C gelagert worden.

Nach einer ersten Kutterung der vorbereiteten Fleischstücke erfolgte zunächst die Zugabe von ca. 200 g Scherbeneis. Dann wurde der Kutter kurz auf hoher Tourenzahl eingeschaltet mit anschliessender Zugabe von weiteren ca. 200 g Eis sowie Milchpulver, Kochsalz, Mischgewürz und Phosphat. Nach erneutem kurzen Kuttervorgang wurde die Keimsuspension (10 ml/kg Brät) mit dem restlichen Eis zugegeben und das Brät bis zur gewünschten Konsistenz durchgekuttert.

Das beimpfte Kalbsbratwurst- und Luga-nigabrät wurde in sterile Plastikbecher abgefüllt (je ca. 50 g), die mit Alufolie dicht verschlossen wurden.

Die Herstellung des Hackfleisches für insgesamt 3 Versuchsreihen erfolgte aus Rinderschultermuskulatur. Bei 2 Versuchsreihen stammte das Fleisch aus Metzgereien; der Zeitpunkt der Schlachtung und damit das Alter des Fleisches war nicht bekannt. Für die 3. Versuchsreihe konnte das Material direkt von einem Zerlegungsbetrieb bezogen werden, bei dem die Zerlegung und Entbeinung der Rinderhälften 3 Tage nach der Schlachtung erfolgte. Pro Versuchsreihe wurden 2 Teilstücke von je ca. 3 Kilogramm verwendet. Der Transport in das Labor erfolgte in einer Kühlbox bei ca. 4°C . Die Verarbeitung jeweils eines Teilstückes erfolgte am selben Tag, während das andere für den Versuchsansatz mit dem 2. Yersinia-Stamm bis zum nächsten Tag bei $0-1^{\circ}\text{C}$ gelagert wurde. Die Weiterbehandlung der beiden Teilstücke verlief ansonsten in allen 3 Versuchsreihen identisch.

Die Entfernung der Fleischoberfläche erfolgte mit sterilen Messern, wobei das Fleisch nach Entfernen der einen Oberflächenhälfte auf ein anderes, im Dampftopf entkeimtes, Polyäthylenbrett gelegt wurde. Danach wurde das Fleisch in quadratische Stücke von ca. $4 \times 4 \times 1\text{ cm}$ (ca. 20 g) geschnitten und 1 Minute in physiologische NaCl-Lösung, die 10^5 Yersinien/ml enthielt, getaucht. Zur Abtrocknung der Oberfläche wurden beide Seiten der Fleischstücke jeweils 1,5 Minuten auf steri-

le Gaze in eine Plastikschielle gelegt. Ca. 100 dieser kontaminierten Fleischstücke wurden unter sterilen Kautelen ca. 2 Minuten manuell durchmischt und dann 1,5 Stunden in einem sterilen Plastikbehälter bei -18°C gelagert, um für das Wolfen eine ausreichende Festigkeit des Fleisches zu erreichen. Die anschliessende Verarbeitung der Fleischstücke zu Hackfleisch erfolgte mit einem handbetriebeuem Wolf (Lochscheibengrösse: 4,5 mm). Portionen von je ca. 30 g wurden in Beutel aus Aluminiumverbundfolie (Hostaphan-Alu-Hostaphan-PE-KA der Firma Kalle, Wiesbaden), Grösse 18x22 cm, verpackt. Die eine Hälfte der Beutel wurde direkt zugeschweisst und die andere zunächst evakuiert und anschliessend mit einem Gemisch aus 20% CO_2 und 80% O_2 (Schutzgas) begast und verschweisst. Die verwendete Verpackungsmaschine (Typ VC 999) stammte von der Firma Inauen Maschinen AG, Herisau. Der Gasdruck am Manometer der Gasflasche war auf 3 bar eingestellt. Die Begasungszeit betrug ca. 10 Sekunden. Damit sich der Deckel der Vakuumverpackungsmaschine nicht von selbst öffnete, musste er während dieser Zeit heruntergedrückt werden.

Bei allen Versuchsansätzen wurden jeweils 20 g Fleisch vor dem Beimpfen mit den Yersinien entnommen und mit denselben Anreicherungsverfahren, wie bei den Untersuchungen der Tonsillen und Fleischhalbfabrikate, auf das Vorhandensein von Yersinien überprüft. Alle diese Untersuchungen verliefen negativ.

Von den einzelnen Chargen des Kalbsbratwurst- und Luganigabrétes wurden am Herstellungstag Fett-, Wasser-, und Gesamteiweissbestimmungen durchgeführt. Dabei wurde für die Fettbestimmung die Methode nach Grossfeld, für die Wasserbestimmung die Trocknungsmethode mit Seesand und für die Gesamteiweissbestimmung die Methode nach Kjeldahl verwendet.*

* Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, Beuth Verlag, Berlin

Nachfolgend sind die chemischen Analysen-Werte tabellarisch aufgeführt:

	<u>Kalbsbratwurstbrät</u>	<u>Luganigabrät</u>
Wasser	59,4 - 60,4 %	48,4 - 48,8 %
Fett	26,1 - 26,6 %	34,5 - 37,8 %
Gesamteiweiss	9,8 - 10,3 %	11,7 - 13,2 %

III.1.2. Nährmedien und Keimisolierung

III.1.2.1. Tonsillen und Fleischhalbfabrikate

Jeweils gleiche Teile der TSB mit den homogenisierten Tonsillen bzw. Brätproben wurden 3 Tage bei 10° C und 9 Tage bei 4° C bebrütet. Das bei 10° C gelagerte Material wurde am zweiten und das bei 4° C gelagerte Material jeden dritten Tag aufgeschüttelt. Am dritten (10° C) resp. neunten (4° C) Tag wurde 0,1 ml in 10 ml Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS) nach Schiemann (1982) und 1 ml in 9 ml Modifizierete-Rappaport-Bouillon (MRB) nach Wauters (1973) überimpft.

Die Herstellung von BOS erfolgte nach Angaben von Schiemann:

Na ₂ HPO ₄ · 7H ₂ O	17,25 g
Natriumoxalat	5,0 g
Gallensalz (Difco)	2,0 g
NaCl	1,0 g (10 ml 10%ige Lösung)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,01 g (10 ml 0,1%ige ")

werden in 639 ml dest. Wasser gelöst, auf pH 7,6 eingestellt und bei 121° C für 15 Minuten autoklaviert. Danach erfolgt die Zugabe folgender sterilfiltrierter Lösungen:

Sorbose	100 ml 10%ig
Asparagin	100 ml 1%ig
Methionin	100 ml 1%ig
Natriumpyruvat	10 ml 0,5%ig
Metanilgelb	10 ml x 2,5 mg/ml
Hefeextrakt	10 ml x 2,5 mg/ml

sowie von 1 ml einer 0,4%igen alkoholischen (95% Aethanol) Lösung von Irgasan DP 300. Der pH-Wert wird auf 7,6 eingestellt.

An dem Tag, an dem das Medium verwendet wurde, erfolgte die Zugabe von 10 ml Natriumfurandantin (1 mg/ml) und die Abfüllung von jeweils 10 ml in Röhrchen. Der Zeitraum zwischen Herstellung und Verbrauch der BOS lag stets unter 2 Wochen.

Für die Herstellung von MRB wurde dem Basismedium der Firma Merck (Yersinia-Anreicherungs-bouillon) Magnesiumchlorid (Merck), jedoch kein Carbenicillin, zugesetzt.

Die beimpfte BOS und MRB wurden 4 Tage bei 22° C bebrütet. Anschliessend erfolgte die Herstellung je einer dekadischen Verdünnungsreihe bis 10⁻⁶. Je 0,1 ml dieser Verdünnungen wurde auf folgende Festnährmedien mit Glasspateln verteilt:

- Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) der Firma Oxoid (Yersinia Selektivagar Basis und Yersinia Selektivsupplement)
- Wismut-Sulfit-Agar (BS) der Firma Difco (Bacto Bismuth Sulfite Agar)

Die Platten wurden bei 25° C bebrütet und nach 48 Stunden (CIN) bzw. 72 Stunden (BS) auf verdächtige Kolonien untersucht.

III.1.2.2. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganiga-brät und Hackfleisch

Die Plastikbecher mit den Brätproben sowie die Alubeutel mit den Hackfleischproben wurden bei 1°, 4°, 10° und 15° C gelagert. Die Untersuchung der Proben erfolgte am Tage der Herstellung und nach folgenden Zeitabschnitten:

Lagerungs- temperatur	1°C	4°C	10°C	15°C
Tage (nach Herstellung)	2	2	1	1
	4	4	2	2
	6	6	3	3
	8	8	4	4
	10	10	5	5
	12	12	6	6
	14	14	7	7

Am Untersuchungstag wurden dem Plastikbecher bzw. Alubeutel 10 g Material entnommen, in 90 ml Pepton-NaCl homogenisiert und aus dem Homogenisat dekadische Verdünnungen bis 10^{-7} hergestellt. 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe wurde auf CIN-Agar ausgespatelt und 0,05 ml im Tropfverfahren* auf folgende Medien geimpft:

- | | |
|---|--------------------|
| - Standard Koloniezahl-Agar (PC)
(Firma BBL) | Gesamtkeimzahl |
| - Kristallviolett-Neutralrot-Galle-
Glukose-Agar (VRBD)
(Firma BBL) | Enterobakteriazeen |
| - Pseudomonaden-Aeromonaden-Selektiv-
Agar Basis nach Kielwein (GSP) mit
Penicillin-G-Natrium-Zusatz
(Firma Merck) | Pseudomonaden |

* Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, Beuth Verlag, Berlin

- Kaliumrhodanid-Actidione-Natriumazid-
Eigelb-Pyruvat-Agar Basis (KRANEP) Mikrokokken
(Firma Merck)
- Malzextrakt-Agar (MEA) Hefen
(Firma Oxoid)
- Lactobacillus-Agar nach de Man,
Rogosa und Sharpe (MRS) Laktobazillen
(Firma Oxoid)
- Enterococcosel-Agar (E-sel) Enterokokken
(Firma BBL)
- Cereus-Selektiv-Agar Basis
nach Mossel (CEREUS) mit
Eigelbemulsion-Zusatz Bacillus cereus
(Firma Merck)

Die Nährböden wurden wie folgt bebrütet:

PC und CEREUS	48 h bei 30° C
KRANEP und E-sel	48 h " 37° C
GSP und MEA	72 h " 25° C
MRS	48 h " 37° C anaerob
VRBD	48 h " 30° C anaerob

Die VRBD-Platten wurden im Anaerobentopf mit dem Gas-Pak der Firma BBL und die MRS-Platten im Anaerobenschrank, Firma Scholzen, mit einem Gasgemisch aus 5% CO₂, 10% H₂ und 85% N₂ bebrütet.

Die Bestimmung der *Y. enterocolitica*-Keimzahl erfolgte auf CIN-Agar. Die verdächtigen Kolonien wurden ausgezählt und stichprobenweise (3-5 Kolonien) mittels Objektträgeragglutination mit den entsprechenden Antiseren (0:3 oder 0:9) der Firma Fresenius überprüft.

Zur Ermittlung der Begleitflora wurden die oben aufgeführten Nährmedien verwendet. Die jeweils typischen Kolonien wurden gezählt und zur Bestätigung stichprobenweise getestet:

Enterobakteriazeen	: Oxydase neg., Gram neg. Stäbchen
Pseudomonaden	: Oxydase pos., Gram neg. Stäbchen
Mikrokokken	: Katalase pos., Gram pos. Kokken
Hefen	: Gram pos. Sprosspilze
Laktobazillen	: Katalase neg., Gram pos. Stäbchen
Enterokokken	: Katalase neg., Gram pos. Kokken Wachstum bei 44°-46° C und in Bouillon mit 6,5% NaCl bei 37°

Neben der bakteriologischen Untersuchung wurde der a_w -Wert mit dem a_w -Messgerät EEJA-3 der Firma Novasina AG, Zürich und der pH-Wert mit einer Ross-Einstichelektrode der Firma Orion, Küsnacht, und dem pH-Messgerät 654 der Firma Methrohm, Herisau, bestimmt.

III.1.3. Keimidentifizierung

Von den CIN- und BS-Platten wurden jeweils bis zu 5 verdächtige Kolonien pro Platte entnommen, zur Ueberprüfung der Reinheit auf Dreizucker-Eisen-Agar (TSI) der Firma Oxoid fraktioniert ausgestrichen und ca. 18 h bei 25° C bebrütet. Nach Prüfung der Reinheit wurden folgende Medien beimpft:

- TSI-Schrägar (24 h/25° C)
- SIM-Medium (Sulfid-Indol-Beweglichkeit) von Difco (24 h/25° und 37° C)
- Harnstoff-Bouillon (Basismedium und Harnstofflösung) von Oxoid (24 h/25° C)

Als positive Reaktionen für *Y. enterocolitica* und andere *Yersinia*-Spezies (*Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*) wurden gewertet

TSI: Schrägfläche und Stich gelb (Saccharose- und/oder Laktose-, Glukose-positiv) oder Schrägfläche rot (Sacharose- und Laktose-negativ) und Stich gelb (Glukose-positiv), kein oder wenig Gas, kein H₂S;

SIM: bei 25° C beweglich
 bei 37° C unbeweglich

Harnstoff: positiv

Die soweit vordifferenzierten *Yersinien* wurden anschließend auf ihr Verhalten gegenüber folgenden Substraten untersucht:

Simmons-Citrat- (Citrat), Lysin-Dekarboxylase- (Lysin), Arginin-Dihydrolase- (Arginin), Ornithin-Dekarboxylase- (Ornithin), Malonat-Phenylalanin- Desaminase-Medium (Malonat-Phenylalanin), Melibiose, Raffinose und Rhamnose. Während Ornithin, Melibiose, Raffinose und Rhamnose bei 25° C bebrütet wurden, wurden Citrat, Lysin, Arginin und Malonat-Phenylalanin bei 37° C inkubiert. Die Beurteilung erfolgte nach 48 h. Gleichzeitig wurden die Cytochromoxydase- und Katalase-reaktion geprüft.

Diese biochemischen Tests sind in Anlehnung an das von Feeley (1981) aufgestellte Schema zur Trennung der Yersinien von eng verwandten Keimarten, wie z.B. anderen Enterobakteriazeen, durchgeführt worden.

Die Reaktionen der Yersinien gegenüber Melibiose, Raffinose und Rhamnose wurden für die Spezies-Differenzierung verwendet, da sie je nach *Yersinia*-Spezies positiv oder negativ ausfallen.

Alle Isolate mit negativer Cytochromoxydase-Reaktion und negativem Verhalten gegenüber Malonat-Phenylalanin, Lysin, Arginin und Citrat sowie positiver Katalase- und Ornithin-Decarboxylase-Reaktion wurden den folgenden biochemischen Tests unterworfen:

Abbau von Laktose, Saccharose, Maltose, L-Arabinose, D-Xylose, Dulcitol, Sorbit, Adonit, Glukose (mit Durham-Röhrchen und im Oxidations-Fermentationstest [OF-Test]), Inosit, Salicin, Trehalose, Mannit, Gelatine, Aesculin; Nachweis von Indol (SIM), Desoxyribonuklease, Lipase (Tween 80), Beta-Galaktosidase (ONPG); Wachstum in KCN; Reduktion von Nitrat zu Nitrit und das Verhalten im Methylrot-Voges-Proskauer-Medium.

Die Bebrütungstemperatur betrug 25° C. Nur KCN wurde bei 37° C und das Methylrot-Voges-Proskauer-Medium zusätzlich bei 37° C bebrütet. Die Reaktionen wurden nach 72 Stunden (Lipase, Desoxyribonuklease bereits nach 48 Stunden) abgelesen.

Sämtliche für die Differenzierung und taxonomische Zuordnung, einschliesslich der Bestimmung des Biotyps, verwendeten biochemischen Reaktionen sind in Tabelle 12 und 13 zusammengestellt. Die taxonomische Zuordnung der Yersinien erfolgte nach Bergey's Manual (1984).

Die serologischen Untersuchungen von *Y. enterocolitica* mit den Anitseren 0:3 und 0:9 der Firma Fresenius, Bad Homburg, sowie 0:8 und 0:5,27 von Prof. Dr. J. Bockemühl, Hamburg, erfolgten von den Reinkulturen auf TSI-Agar mittels Objektträgeragglutination.

Stämme, die keiner der 4 *Yersinia*-Spezies (*Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*) sicher zuzuordnen waren, wurden in Anlehnung an Delmas und Vidon (1985) als "atypische" *Yersinien* bezeichnet.

Isolate einer Probe, die bei 4° und 10° C oder mit BOS und MRB oder auf CIN und BS gefunden wurden und die die gleichen biochemischen Reaktionen zeigten, wurden als identischer Stamm angesehen.

III.2 Ergebnisse

III.2.1. Vorkommen von Yersinien in Tonsillen und Fleisch- halbfabrikaten

III.2.1.1. Häufigkeit von Yersinien in Schweinetonsillen

In 33 (66%) der 50 untersuchten Schweinetonsillen wurden Yersinien nachgewiesen. 27 Proben wiesen je 1 Stamm, 5 Proben je 2 Stämme und 1 Probe 3 Stämme auf. Von diesen 40 Stämmen konnten 30 als *Y. enterocolitica* identifiziert werden. Die 30 *Y. enterocolitica*-Stämme stammten von 27 Tonsillen, und zwar gehörten 14 Stämme dem Biotyp I und 16 Stämme dem Biotyp IV, Serotyp 0:3 an, wobei aus 3 Tonsillen je ein Stamm beider Biotypen isoliert wurde. Alle Biotyp I-Stämme waren Aesculin und Salicin positiv. Pathogene Stämme des Serotyps 0:8, Biotyp I, sind jedoch nach Wauters (1981 b) Aesculin und Salicin negativ. Von den pathogenen Yersinien wurde somit nur der Serotyp 0:3, und zwar in 32% der untersuchten Tonsillen, nachgewiesen.

Die 40 isolierten Stämme teilten sich wie folgt auf:

Y. enterocolitica

Biotyp IV, Serotyp 0:3	16*)	(davon 1 ONPG neg.; 11 Arabinose neg.)
Biotyp I	14**)	

"Atypische" Yersinien	10***)	(3 Melibiose und Raffinose pos.; 7 Rhamnose pos. und Voges-Proskauer neg.)
-----------------------	--------	---

*) 3 Stämme wurden vom Institut Pasteur, Paris, untersucht und bestätigt

**) 2 Stämme wurden vom Institut Pasteur, Paris, untersucht und dem Biotyp I, Serotyp 0:5 zugeordnet; 4 weitere Stämme wurden mit 0:8-Antiserum (Herkunft: Prof. Dr. J. Bockemühl, Hamburg) mit negativem Ergebnis überprüft

***) "Atypische": keiner der 4 *Yersinia*-Spezies (*Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*) sicher zuzuordnen

III.2.1.2. Vorkommen von Yersinien in Fleischhalbfabrikaten

Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Von den 125 untersuchten Brätproben waren 103 (82,4 %) mit Yersinien kontaminiert. Insgesamt wurden aus den Proben 174 verschiedene Stämme isoliert, von denen 97 als *Y. enterocolitica* identifiziert werden konnten, und zwar aus 94 Proben der Biotyp I und aus 3 weiteren Proben der Biotyp II. In 57 Proben liessen sich andere Yersinien (77 verschiedene Stämme) nachweisen.

Insgesamt wurden in 50 Proben je 1 Stamm, in 38 Proben je 2 Stämme, in 12 Proben je 3 Stämme und in 3 Proben je 4 Stämme nachgewiesen. Alle Biotyp I-Stämme waren Aesculin und Salicin positiv und sind daher, wie bereits ausgeführt, nicht den pathogenen Stämmen zuzurechnen. Stichprobenweise wurden 20 dieser Stämme mit dem 0:8-Antiserum mit negativem Ergebnis überprüft.

11 *Y. enterocolitica*-Stämme des Biotyps I, die das Institut Pasteur, Paris, für uns typisierte, wurden als Biotyp I bestätigt. Sie konnten den folgenden Serotypen zugeordnet werden, und zwar 6x 0:5, 2x 0:12,25, 1x 0:16, 1x 0:25,35 und 1x 0:7,8,13,19.

Auch die Stämme des Biotyps II waren Aesculin- und Salicin-positiv. Die pathogenen Serotypen 0:9 und 0:5,27 des Biotyps II sind aber ebenfalls (Wauters 1981 b), wie allgemein alle pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämme (Toma et al. 1984), in diesen beiden Reaktionen negativ. Die serologische Ueberprüfung der 3 Stämme mit dem Antiserum 0:9 und 0:5,27 verlief auch hier negativ. Somit konnten in den Brätproben Serotypen, die für den Menschen als pathogen gelten, nicht nachgewiesen werden.

III.2.1.3. Einfluss der Isolierungsmethoden auf die Häufigkeit des Nachweises von *Yersinien*

Y. enterocolitica sowie die anderen *Yersinien* wurden mit den verwendeten Anreicherungsverfahren und Selektivmedien in unterschiedlicher Häufigkeit nachgewiesen. Da pathogene *Yersinien* nur in den Tonsillen vorhanden waren, werden diese Ergebnisse von den Untersuchungen mit Brätproben getrennt behandelt.

Die Voranreicherung bei 4° C in Trypticase-Soja-Bouillon (TSB) führte bei den Tonsillen und bei den Fleischhalbfabrikaten (Tabelle 15 und 16) zu höheren Isolierungsraten als bei 10° C.

In den Tonsillen wurden mit beiden Hauptanreicherungsverfahren (BOS und MRB) nach Voranreicherung bei 4° C vom Serotyp 0:3 alle 16 Stämme und bei 10° C nur 9 Stämme nachgewiesen. Auch die nichtpathogenen *Yersinien* wurden bei 4° C häufiger isoliert (20 statt 9 Stämme). Bei diesen führte die Kombination beider Temperaturen (4° und 10° C) zu einer Steigerung der Isolierungsrate um 20% auf 24 Stämme.

Aus den Brätproben konnten bei 4° C ebenfalls mehr *Yersinia*-Stämme isoliert werden, und zwar 140 (davon 83 *Y. enterocolitica*) gegenüber 119 (davon 75 *Y. enterocolitica*) bei 10° C. Die Kombination beider Temperaturen erbrachte 174 (davon 97 *Y. enterocolitica*) Stämme.

Von den verwendeten Anreicherungsmedien führte sowohl bei den Tonsillen als auch bei den Fleischhalbfabrikaten (Tabelle 15 und 16) Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS) zu wesentlich besseren Ergebnissen als Modifizierte-Rappaport-Bouillon (MRB).

Bei den Tonsillenproben wurden mit BOS vom Serotyp 0:3 14 Stämme, hingegen mit MRB nur 9 Stämme isoliert. Allerdings wurde mit MRB aus 2 Proben der Serotyp 0:3 isoliert, bei

denen die BOS-Anreicherung negativ verlief. Auch für die nichtpathogenen *Yersinien* lagen die Isolierungsraten bei BOS höher.

Noch stärker sind die Unterschiede bei den Untersuchungen der Brätproben. Mit BOS liessen sich insgesamt 171 Stämme (davon 97 *Y. enterocolitica*) mit MRB dagegen nur 13 Stämme (davon 6 *Y. enterocolitica*) isolieren. Durch die Kombination beider Verfahren wurden insgesamt nur 3 Stämme mehr (keine *Y. enterocolitica*) als durch die alleinige Anreicherung in BOS nachgewiesen.

Von den eingesetzten Selektivmedien (Tabelle 17 und 18) erwies sich Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) gegenüber Wismut-Sulfit-Agar (BS) als überlegen.

Bei den Tonsillen wurden vom Serotyp O:3 alle 16 Stämme auf CIN und nur 10 auf BS isoliert. Die nichtpathogenen *Yersinia*-Stämme wurden ebenfalls auf CIN häufiger nachgewiesen (21 statt 10 Stämme). Bei Verwendung beider Selektivmedien wurden 3 Stämme (14%) mehr als auf CIN allein nachgewiesen.

Bei den Fleischhalbfabrikaten konnten auf CIN 157 Stämme, gegenüber 105 auf BS, isoliert werden. Durch die Kombination beider Medien wurde allerdings auch hier eine Steigerung um 11% auf 174 Stämme erreicht.

III.2.2. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganiga-brät und Hackfleisch

III.2.2.1. Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Kalbsbratwurstbrät

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

Der Ausgangswert für die Yersinien lag bei 10^3 /g. Erwartungsgemäss wurde die Entwicklung der beiden verwendeten Stämme (0:3 und 0:9) wesentlich durch die Lagerungstemperatur beeinflusst. Bei 1°C während 2 Wochen Lagerung konnten sich die Stämme nicht vermehren; hingegen war bei 4°C innerhalb des gleichen Zeitraums ein Anstieg der Yersinien um 2 Zehnerpotenzen zu verzeichnen. Erst bei den Temperaturbereichen 10° und 15°C kam es zu einem deutlichen Wachstum. Bei 10°C war gegen Ende der Lagerung (1 Woche) und bei 15°C nach 4-5 Tagen der Höchstwert von 10^7 Yersinien/g erreicht.

Die Begleitkeimflora, als Gesamtkeimzahl angegeben, betrug zu Beginn der Versuche ca. 10^5 /g. Bereits bei 1°C war ein deutlicher Anstieg während zweiwöchiger Lagerung um knapp 3 Zehnerpotenzen vorhanden. Während bei 4°C neben grampositiven Kokken Pseudomonaden dominierten, konnten sich bei 10° und 15°C auch die Enterobakteriazeen stark vermehren. Es wurden innerhalb 7-tägiger Lagerung bei 15°C Keimzahlen um 10^8 /g erreicht. Laktobazillen und Hefen zeigten ebenfalls erst ab 10°C ein deutliches Wachstum und verhielten sich ähnlich wie die Enterobakteriazeen.

Vergleicht man das Wachstumsverhalten der Yersinien mit der Begleitflora, so ist zunächst festzustellen, dass die übrigen Enterobakteriazeen, deren Ausgangskeimzahlen in der gleichen Grössenordnung wie die der Yersinien lagen, sich bei 4° , 10° und 15°C stets parallel zu diesen vermehrten. Die Ausgangszahlen für die Pseudomonaden lagen etwa 1 Zehnerpotenz über denen der Yersinien. Bei 1°C zeigten sie wie alle übrigen Keimarten eine Lag-Phase von 2-4 Tagen. Dann

vermehrten sie sich aber schneller als die Yersinien und übrigen Enterobakteriazeen. Auch bei 4° C war eine entsprechende Lag-Phase zu beobachten. Danach entwickelten sich die Pseudomonaden zunächst parallel zu den Yersinien und anderen Enterobakteriazeen, und etwa zu Beginn der 2. Woche vermehrten sie sich dann deutlich schneller. Bei 10° und 15° C waren diese Unterschiede im Wachstum zwischen Pseudomonaden und Enterobakteriazeen, einschliesslich Yersinien, nicht mehr vorhanden. Nach 2-3 Tagen hatten die Yersinien und übrigen Enterobakteriazeen die gleichen Keimzahlen wie die Pseudomonaden erreicht. Erst danach stieg die Zahl der Pseudomonaden etwa stärker an. Die Differenzen der Keimzahlen zwischen Pseudomonaden und Enterobakteriazeen sowie Yersinien waren gegen Ende der Lagerung etwa gleich gross wie zu Beginn der Versuche.

Der a_w -Wert lag während der gesamten Versuchsdauer bei 0,98. Beim pH-Wert kam es nur bei 10° und 15° C zu einem leichten Abfall von 5,8 auf 5,7 - 5,6.

III.2.2.2. Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Luga-nigabrät

In Abbildung 2 sind die Ergebnisse aufgezeichnet.

Die geprüften *Y. enterocolitica*-Stämme mit Ausgangskeimzahlen von 10^2 - 10^3 /g konnten sich bei den 4 Temperaturbereichen nicht vermehren.

Ein Anstieg der Gesamtkeimzahl, die sich zu Beginn der Lagerung ebenso wie im Kalbsbratwurstbrät hauptsächlich aus grampositiven Kokken zusammensetzte (10^5 /g), war erst ab 10° C zu beobachten. Dieser betrug nach 1 Woche ca. $1,5$ Zehnerpotenzen und war auf eine starke Vermehrung von Hefen zurückzuführen, welche bereits bei 4° C ein deutliches Wachstum zeigten. Bei einer Lagerungstemperatur von 15° C war das Maximum von 10^8 /g nach 6 Tagen erreicht. Enterobakteriazeen und Pseudomonaden konnten sich in diesem Material nicht anreichern. Von den noch zusätzlich ermittelten Keimarten, Laktobazillen sowie Mikro- und Enterokokken, zeigten die Laktobazillen bereits ab 4° C, die Kokken erst bei 15° C, eine deutliche Vermehrung. Die Höchstwerte dieser drei Keimarten lagen zwischen 10^6 und 10^7 /g.

Der a_w -Wert betrug in diesem Brät während der Lagerung unverändert 0,97. Der pH-Wert stieg leicht bei 1° , 4° und 10° C von 5,6 auf 5,7 und bei 15° C auf 5,8 an.

III.2.2.3. Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Hackfleisch mit unterschiedlicher Begleitflora sowie mit und ohne Schutzgas

Das Hackfleisch der ersten Versuchsreihe wies einen sehr geringen Keimgehalt von weniger als 100 Keimen/g auf. Das Hackfleisch der zweiten Versuchsreihe zeigte eine Ausgangskeimbelastung von 10^5 /g und das der dritten Versuchsreihe von 10^6 /g. Die letzte Versuchsreihe konnte auf Grund der störenden Begleitflora, insbesondere Enterobakteriazeen und Pseudomonaden, die auf den CIN-Agar-Platten das Wachstum der Versinien überdeckten, nur zu einem geringen Teil ausgewertet werden. Daher wird nur auf die Ergebnisse der ersten beiden Versuchsreihen (Ausgangskeimbelastung unter 10^2 und 10^5 /g) eingegangen. Diese sind in den Abbildungen 3 bis 6 dargestellt.

Die Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse bei einer Lagertemperatur von 1° C. Bei dieser Temperatur konnten sich die geprüften *Y. enterocolitica*-Stämme (Ausgangswert 10^3 /g) im keimarmen Hackfleisch **ohne Schutzgas** während 2-wöchiger Lagerung um 1 Zehnerpotenz vermehren. Im keimhaltigen Hackfleisch reicherte sich nur der Serotyp 0:9 um ebenfalls 1 Zehnerpotenz an. In den Packungen **mit Schutzgas** war hingegen bei beiden Versuchsreihen und *Y. enterocolitica*-Serotypen keine Vermehrung festzustellen.

Die Begleitflora im keimarmen Hackfleisch bestand nur aus Pseudomonaden, die sich ohne Schutzgas auf 10^5 /g anreicherten, während sie mit Schutzgas unter der Nachweisgrenze blieben.

Im keimhaltigen Hackfleisch ohne Schutzgas erreichte die Gesamtkeimzahl Werte zwischen 10^7 und 10^8 /g und bestand vorwiegend aus grampositiven Kokken, Pseudomonaden und Laktobazillen. Die Enterobakteriazeen konnten sich nur um ca. 1,5 Zehnerpotenzen vermehren. Bei Verwendung von Schutzgas wurde vor allem das Wachstum der Pseudomonaden unterdrückt und die

Gesamtkeim- und Enterobakteriazeen-Zahlen lagen ca. 1 Zehnerpotenz niedriger als in den Packungen ohne Schutzgas. Auf die Entwicklung der Laktobazillen hatte das Schutzgas keinen Einfluss.

Bei einer Lagerungstemperatur von 4° C (Abbildung 4) konnten sich die Yersinien im keimarmen Hackfleisch **ohne Schutzgas** nach 1 Woche um 2 und nach 2 Wochen um 4 Zehnerpotenzen auf $10^7/g$ vermehren. Im keimhaltigen Hackfleisch dagegen betrug der Anstieg während der 14-tägigen Lagerung nur 1 (Serotyp 0:3) bis 2 Zehnerpotenzen (Serotyp 0:9).

In den **mit Schutzgas** versehenen Packungen erfolgte im keimarmen Hackfleisch bei beiden Serotypen keine Vermehrung und im keimhaltigen Hackfleisch kam es lediglich beim Serotyp 0:9 zu einem Anstieg von unter 1 Zehnerpotenz.

Die Pseudomonaden zeigten eine deutliche Vermehrung in den Packungen ohne Schutzgas, während mit Schutzgas ihr Wachstum stark unterdrückt wurde. Im übrigen verhielt sich die Begleitflora ähnlich wie bei 1° C.

Die bei einer Lagerungstemperatur von 10° C ermittelten Keimverläufe sind in Abbildung 5 dargestellt. Bei den Packungen **ohne Schutzgas** stiegen die Yersinien im keimarmen Hackfleisch bereits nach 4 Tagen auf $10^7/g$ an und nach 5 Tagen war der Endwert von $10^8/g$ erreicht. Demgegenüber wurden im keimhaltigen Hackfleisch nur geringfügig höhere Werte als bei 4° C erreicht und die Yersinienzahlen lagen nach 4 Tagen zwischen 10^4 und $10^5/g$ (Serotyp 0:3) bzw. zwischen 10^5 und $10^6/g$ (Serotyp 0:9). Die Entwicklung des Serotyps 0:3 konnte allerdings nur 5 Tage verfolgt werden, da danach die Selektivplatten durch die Begleitflora überwuchert wurden.

Bei den Packungen **mit Schutzgas** kam es auch im keimarmen Hackfleisch zu einer Vermehrung der beiden Yersinienstämme auf Keimzahlen zwischen 10^6 und $10^7/g$ nach 5 (0:3) bzw. 7 Tagen (0:9). Der Anstieg im keimhaltigen Hackfleisch betrug nur ca. 1 Zehnerpotenz und auch hier konnte das Verhalten des Serotyps 0:3 nur 4 Tage beobachtet werden, da die Yersinien auf den Nährböden durch die Begleitflora überwuchert wurden.

Die Gesamtkeim- und Laktobazillen-Zahlen waren in den Packungen mit und ohne Schutzgas etwa gleich, während die Pseudomonaden und Enterobakteriazeen durch das Schutzgas in ihrem Wachstum gehemmt wurden.

Die Wachstumskurven bei einer Lagertemperatur von 15° C sind in Abbildung 6 dargestellt. Gegenüber der Lagerung bei 10° C war in den Hackfleischchargen **ohne Schutzgas** nur noch ein zusätzlicher geringfügiger Anstieg der Yersinien von weniger als 1 Zehnerpotenz zu beobachten. Nach 4 Tagen betrugen die Yersinienzahlen im keimarmen Hackfleisch 10^8 /g und im keimhaltigen 10^5 (0:3) bzw. 10^6 /g (0:9). Der Serotyp 0:3 konnte allerdings nur 5 Tage quantitativ erfasst werden, da die Selektivplatten anschliessend von der Begleitflora überwuchert wurden.

In den Packungen **mit Schutzgas** entwickelten sich die Yersinien im keimarmen Hackfleisch ebenso wie in den Packungen ohne Schutzgas. Demgegenüber war die Vermehrung im keimhaltigen Hackfleisch etwas niedriger als in den Packungen ohne Gas und der Serotyp 0:3 konnte auf Grund der störenden Begleitflora nur 2 Tage quantitativ verfolgt werden.

Während die Gesamtkeim- und Enterobakteriazeen-Zahlen sowohl in den Packungen mit als auch ohne Schutzgas etwas höher lagen als bei 10° C, konnten sich die Pseudomonaden lediglich im keimarmen Hackfleisch mit Schutzgas stärker als bei 10° C anreichern und erreichten annähernd die gleichen Werte wie in den Packungen ohne Schutzgas.

Vergleicht man im keimhaltigen Hackfleisch ohne Schutzgas das Wachstumsverhalten der Yersinien gegenüber der Begleitflora, so ist bei allen Lagerungstemperaturen festzustellen, dass sich sowohl die Gesamtkeimflora als auch die Enterobakteriazeen und Pseudomonaden stärker vermehrten als die Yersinien. Allerdings war während der Lagerung zu beobachten, dass sich die Yersinien anfänglich ähnlich wie die Begleitkeime anreicherten, dann aber in ihrer Entwicklung abfielen.

Diese Beobachtung wird vor allem bei den Temperaturbereichen 10° und 15° C deutlich, bei denen sich der Serotyp 0:9 innerhalb von 1 (15° C) bis 2 (10° C) Tagen etwa parallel zur Begleitflora um knapp 2 Zehnerpotenzen vermehrte. Danach stiegen die Versinien nur noch gering, die Begleitkeime dagegen weiterhin deutlich, an.

Der a_w -Wert sämtlicher Hackfleischchargen betrug 0,99 und zeigte während der Lagerung keine Änderung.

Der pH-Verlauf verhielt sich beim keimarmen und keimhaltigen Hackfleisch unterschiedlich.

Im keimhaltigen Hackfleisch mit und ohne Schutzgas fiel der pH-Wert von 5,6 - 5,7 bei 1° C nach 2-wöchiger und bei 4° C nach 8-tägiger Lagerung auf 5,3 - 5,4 ab. Bei 10° C war nach 3 Tagen und bei 15° C nach 2 Tagen der Tiefstwert von pH 5,3 erreicht.

Im keimarmen Hackfleisch kam es nur in den Packungen ohne Schutzgas bei 10° und 15° C zu einem langsamen pH-Abfall, und zwar von 5,6 - 5,7 auf 5,5 (10° C) bzw. 5,4 (15° C) nach 7-tägiger Lagerung.

IV. DISKUSSION

IV.1. Nachweis von Yersinien in Tonsillen und Fleischhalbfabrikaten

IV.1.1. Häufigkeit von pathogenen und nichtpathogenen *Y. enterocolitica* sowie anderen *Yersinia*-Spezies

In den eigenen Untersuchungen konnten bei 33 (66%) der 50 untersuchten **Schweinetonsillen** Yersinien nachgewiesen werden. Aus 16 Tonsillen (32%) liess sich *Y. enterocolitica* Serotyp 0:3 identifizieren.

Die Isolierungsrate für Yersinien aus Schweinetonsillen liegt nach den Untersuchungen von Nesbakken und Kapperud (1985) und De Boer et al. (1986) zwischen 43,4 und 72,5%. Die Angaben in der Literatur über die Häufigkeit von *Y. enterocolitica*-Serotyp 0:3 und 0:9 schwanken für den Serotyp 0:3 zwischen 1 und 59,6% und für den Serotyp 0:9 zwischen 1,9 und 18,2% (Bockemühl und Roth 1978, Christensen 1980 b, Nesbakken 1985, Weber und Knapp 1981 u.a.).

Ueber Untersuchungen von Schweinetonsillen in der Schweiz gibt es bisher keine Literaturangaben. Untersucht wurden jedoch Schweinekotproben (Leemann 1979). Aus 500 Kotproben konnten 10 *Y. enterocolitica* 0:3-Stämme (2%) isoliert werden.

Obwohl für die eigenen Untersuchungen nur 50 Tonsillen entnommen wurden, lassen die Ergebnisse darauf schliessen, dass in der Schweiz eine ähnliche Situation wie in anderen europäischen Ländern besteht.

Im Gegensatz zu den Tonsillen liessen sich in den 125 **Brätproben** keine pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämme nachweisen.

Diese Beobachtung wird von mehreren Autoren, die Schweinefleisch und Fleischerzeugnisse untersuchten, bestätigt (Caprioli et al. 1978, Christensen 1981, Delmas und Vidon 1985, Harmon et al. 1984, Hänninen und Raevuori 1981, Hurvell et al. 1981, Stengel 1985, Tamminga et al. 1980). Ueber einen

Anteil pathogener *Y. enterocolitica*-Stämme bis zu maximal 4% der Proben berichten Asakawa et al. (1979), De Boer et al. (1986), Fukushima (1985), Fukushima et al. (1979), Heim und Heim (1982), Kaneko et al. (1985), Leistner et al. (1975), Narucka und Westendoorp (1977), Nesbakken et al. (1985), Oosterom (1979) und Schiemann (1980). Nur wenige Autoren fanden höhere Prozentsätze. So isolierten Breuer und Kniewallner (1985) den Serotyp 0:3 aus 12% der Hackfleischproben und Beumer et al. (1983) fanden in 19% der untersuchten Filets américains die Serotypen 0:3, 0:9 und 0:5,27.

Der Nachweis nichtpathogener *Y. enterocolitica*-Stämme gelang in den eigenen Untersuchungen bei 97 (77,6%) von 125 Proben, wovon aus 94 Proben der Biotyp I isoliert wurde.

In anderen Untersuchungen wurden ähnliche Feststellungen gemacht. So konnten verschiedene Autoren in 34 bis 86% der Fleischproben nichtpathogene *Y. enterocolitica*-Stämme nachweisen (Breuer und Kniewallner 1985, Delmas und Vidon 1985, Fukushima 1985, Kaneko et al. 1985, Schiemann 1980). De Boer et al. (1986) berichten, dass sie in 62% der 171 untersuchten Hackfleischproben *Yersinia*-Spezies fanden. In dieser Arbeit wurden neben Hackfleisch auch Tonsillen, Wasser sowie Zungen und verschiedene andere Lebensmittel untersucht. Aus allen Proben zusammen isolierten sie 310 *Yersinia*-Stämme, von denen 71% der Spezies *Y. enterocolitica* zuzuordnen waren. Von diesen wiederum konnten nur 5% als pathogene Serotypen identifiziert werden.

Andere Autoren berichten über deutlich geringere Isolationsraten (0 bis 16%) für nichtpathogene *Y. enterocolitica* (Asakawa et al. 1979, Christensen 1981, Fukushima et al. 1979, Harmon et al. 1984, Hänninen und Raevuori 1981, Heim und Heim 1982, Hurvell et al. 1981, Narucka und Westendoorp 1977, Nesbakken et al. 1985, Oosterom 1979, Stengel 1985, Tamminga et al. 1980).

Der Serotyp 0:5, der dem Biotyp I zuzuordnen ist, wurde, wie auch in den eigenen Untersuchungen, von mehreren Autoren am häufigsten gefunden (Breuer und Kniewallner 1985, Delmas und

Vidon 1985, N sbakken et al. 1985, Oosterom 1979, Schiemann 1980).

Von den anderen Yersinia-Spezies (*Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*) konnten in den eigenen Untersuchungen aus 125 Proben 65 Stämme sowie 12 atypische Yersinien isoliert werden. *Y. kristensenii* wurde in 29 (23%), *Y. frederiksenii* in 10 (8%), *Y. intermedia* in 26 (21%) und die atypischen Yersinien in 12 (10%) Proben nachgewiesen.

Die meisten Autoren isolierten, sofern Angaben gemacht werden, diese Spezies in Prozentsätzen von 0 bis 18% (Delmas und Vidon 1985, Fukushima 1985, Harmon et al. 1984, Myers et al. 1982, Nesbakken et al. 1985, Stengel 1985). Breuer und Kniwallner (1985) fanden im Hackfleisch bei 28% der Proben *Y. kristensenii*, bei 39% *Y. frederiksenii* und bei 49% *Y. intermedia*.

Aus den vorliegenden Untersuchungen und denen anderer Autoren kann geschlossen werden, dass nichtpathogene *Y. enterocolitica*-Stämme sowie andere *Yersinia*-Spezies in rohen Fleischerzeugnissen regelmässig anzutreffen sind. Dagegen wurden pathogene Serotypen selten gefunden, wenn man auch mit regionalen Unterschieden rechnen muss, wie die Ergebnisse von Breuer und Kniwallner (1985) aus Oesterreich sowie von Beumer et al. (1983) aus Holland gezeigt haben.

IV.1.2. Eignung verschiedener Anreicherungs- und Selektivmedien zum Nachweis von *Yersinia*-Spezies

Wie im Literaturteil beschrieben, werden die verschiedenen Serotypen abhängig von den verwendeten Anreicherungs- und Selektivmedien in unterschiedlicher Häufigkeit isoliert. Es ist ausserordentlich schwierig, eine vergleichende Wertung der verschiedenen Kultivierungsverfahren vorzunehmen, da die Autoren unterschiedliche Nährmedienkombinationen und Bebrütungstemperaturen bzw. Bebrütungszeiten verwendeten. Hinzu kommt, dass die Untersuchungen mit verschiedensten Untersuchungsmaterialien durchgeführt wurden. Die Aussagen der Autoren über einen Vergleich von Kultivierungsverfahren sind zudem mit Zurückhaltung zu werten, da sie häufig auf weniger als 10 isolierten humanpathogenen Stämmen (0:3, 0:8, 0:9, 0:5,27) beruhen.

Nach Schiemann (1984 b) sowie Schiemann und Olson (1984) soll für die Voranreicherung 15° C ebensogut geeignet sein wie 4° C. In den eigenen Untersuchungen konnten jedoch bei 4° C mehr *Y. enterocolitica*-Stämme (auch vom Serotyp 0:3) nachgewiesen werden als bei 10° C. Dies wiederum steht in Uebereinstimmung mit einer früheren Aussage von Schiemann (1982), wonach er bei 4° C bessere Ergebnisse erzielte als bei 10° C. Die anderen *Yersinia*-Spezies sowie die atypischen *Yersinien* konnten in den eigenen Untersuchungen bei 4° C ebenfalls häufiger gefunden werden als bei 10° C.

Nach den Angaben verschiedener Autoren soll sich das Modifizierte-Rappaport-Medium nach Wauters (MRB) besonders gut für die Anreicherung der pathogenen Serotypen 0:3 und 0:9 eignen (Lee 1977 a, Schiemann 1982, Van Noyen et al. 1980, Wauters 1973, Weber und Lembke 1981). Für die Anreicherung aller Serotypen empfiehlt Schiemann (1982) eine Voranreicherung mit anschliessender Ueberimpfung in Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS). Daher wurden in den vorliegenden Untersuchungen diese beiden Medien parallel verwendet.

Da nach Schiemann (1982) Carbenicillin das Wachstum gewisser *Y. enterocolitica* O:3-Stämme hemmen soll, erfolgte die Herstellung von MRB ohne diesen Zusatz.

Wenn auch die Anzahl der eigenen isolierten O:3-Stämme (mit BOS 14 Stämme, mit MRB 9 Stämme) für eine Aussage zu gering war, so kann man dieses Ergebnis dennoch in gewisser Weise als Bestätigung der Empfehlung von Schiemann (1982) ansehen.

Stämme vom Biotyp I wurden dagegen relativ häufig isoliert. So liessen sich mit BOS sowohl auf den Tonsillen als auch in den Fleischhalbfabrikaten mehr Stämme nachweisen als mit MRB (13 statt 6 aus Tonsillen bzw. 94 statt 6 aus Brätproben). Dies steht in Uebereinstimmung mit der Aussage von Schiemann (1982), der für den Nachweis aller *Y. enterocolitica*-Serotypen BOS empfiehlt. Auch die anderen Yersinien (*Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, atypische *Y.*) wurden mit BOS häufiger als mit MRB isoliert.

Von mehreren Autoren wird Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) als effektivster Festnährboden für die Isolierung von *Y. enterocolitica* beschrieben (Harmon et al. 1983, Head et al. 1982, Kaneko et al. 1984, Walker und Gilmour 1986, Weber et al. 1983, Zink et al. 1982). Als gute Ergänzung für CIN wird von Harmon et al. (1983) Wismut-Sulfit-Agar (BS) genannt.

Die eigenen Ergebnisse stehen in Uebereinstimmung mit den Feststellungen der genannten Autoren. Sowohl die pathogenen (O:3) als auch die nichtpathogenen *Y. enterocolitica*-Stämme sowie die anderen Yersinien konnten auf CIN häufiger nachgewiesen werden als auf BS.

IV.2. Lagerungsversuche mit Kalbsbratwurst-, Luganigabrät und Hackfleisch

IV.2.1. Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Kalbsbratwurst- und Luganigabrät

Auffallend war bei diesen Lagerungsversuchen, dass sich die beiden *Y. enterocolitica*-Stämme im Luganigabrät nicht vermehren konnten. Lediglich Hefen zeigten in diesem Brät ein starkes Wachstum.

Im Kalbsbratwurstbrät war dagegen bereits ab 4° C eine Vermehrung der Yersinien von 10^3 auf 10^5 /g zu verzeichnen. Bei 10° und 15° C stiegen sie sogar um 4 Zehnerpotenzen an. Auch bei der Begleitflora, hauptsächlich grampositive Kokken und Pseudomonaden, war ein deutliches Wachstum zu beobachten.

Das Kalbsbratwurstbrät wurde mit Eisschüttung (30% Wasserzugabe) und nur 1,5% Kochsalz hergestellt, während das Luganigabrät kein Fremdwasser und 2,1% Nitritpökelsalz (besteht aus 99,4% Kochsalz und 0,6% Nitrit) enthielt.

Trotz des Wasserzusatzes und des geringeren Salzgehaltes im Kalbsbratwurstbrät unterschied sich der a_w -Wert zwischen den beiden Brätsorten nur wenig. Er betrug 0,98 beim Kalbsbratwurst- und 0,97 beim Luganigabrät. Dies dürfte auf die erhöhte Wasserbindung des Aktomyosins infolge des Phosphatzusatzes und auch auf den Milchpulverzusatz (3,2%) im Kalbsbratwurstbrät zurückzuführen sein. Fehler bei der a_w -Wert-Messung sind praktisch auszuschliessen, da bei beiden Brätsorten im Verlaufe der Lagerung über 20 Einzelmessungen durchgeführt wurden.

Die Frage, welchen Einfluss der a_w -Wert auf das Wachstum von *Y. enterocolitica* hat, lässt sich anhand der folgenden Literaturangaben, zumindest ansatzweise, beantworten. Stern et al. (1980) stellten in Bouillonkultur mit 7% Kochsalz einen bakteriostatischen oder bakteriziden Effekt auf *Y. enterocolitica* fest; dabei wurde ein a_w -Wert von 0,945 gemessen. Heim et al. (1980) beobachteten erst bei 9% Kochsalz in Nährbouillon kein Wachstum der verwendeten *Y. enterocolitica*-Stämme,

ohne jedoch den a_w -Wert anzugeben, der vermutlich bei 0,94 lag. Untersuchungen in Lebensmitteln mit unterschiedlichen Kochsalzkonzentrationen wurden von Nielsen und Zeuthen (1985 b) sowie Raccach und Henningsen (1984) durchgeführt. a_w -Werte werden jedoch auch hier nicht angegeben.

Der geringe Unterschied im a_w -Wert zwischen Kalbsbratwurst- und Luganigabrät gibt keine ausreichende Erklärung für das unterschiedliche Verhalten der Yersinien in den beiden Brät-sorten.

Auch der pH-Wert kann kaum einen Einfluss auf die Stämme genommen haben, da zwischen den Brätsorten keine relevanten Unterschiede bestanden; beim Luganigabrät stieg der pH-Wert von 5,6 auf 5,8 an und beim Kalbsbratwurstbrät fiel er von 5,8 auf 5,7-5,6.

Insgesamt können a_w -Wert, Kochsalzgehalt und pH-Verlauf das abweichende Verhalten der Yersinien im Kalbsbratwurst- und Luganigabrät nicht hinreichend erklären. Vermutlich ist der Nitritgehalt im Luganigabrät ein wesentlicher Faktor. Hierfür sprechen auch einige Angaben aus der Literatur.

So berichten Heim et al. (1984), dass in Nährbouillon mit pH-Wert 5,0 bereits 100 mg Nitrit pro Liter Bouillon (100 ppm) eine Hemmung auf *Y. enterocolitica*-Stämme ausübte. Bei pH 6,0 zeigten allerdings erst 500 ppm eine Wirkung. Raevuori et al. (1979) stellten fest, dass bei der Rohwurstreifung neben den zugegebenen Starterkulturen die zusätzliche Verwendung von Nitrit in Höhe von 150 ppm eine Hemmwirkung hatte. Von Raccach und Henningsen (1984) wurde beobachtet, dass in autoklaviertem Schweinefleisch die Zugabe von 156 ppm Nitrit eine Hemmung von *Y. enterocolitica* um ca. 3 Zehnerpotenzen hervorrief.

In den vorliegenden Untersuchungen waren im Luganigabrät 126 ppm Nitrit enthalten. Offensichtlich ist die Hemmung der Yersinien auf den Nitritgehalt in Verbindung mit dem etwas niedrigeren a_w -Wert zurückzuführen.

Dass die Reifung von Rohwürsten einen Einfluss auf die Ueberlebensfähigkeit von *Y. enterocolitica* hat, wird von Heim et al. (1985) und Raevuori et al. (1979) beschrieben. Die von den Autoren verwendeten Kontaminationsdosen lagen zwischen 10^4 und 10^6 Yersinien/g. Im Verlauf der Lagerung war eine deutliche Reduzierung der vermehrungsfähigen Keime festzustellen. Heim et al. (1985) geben als Ursachen für die Abnahme der Yersinien im Verlauf der Räucherung und Reifung die konkurrierenden Rohwurstkeime, den steigenden Salzgehalt sowie den sinkenden pH- und a_w -Wert, bedingt durch den Wasserverlust, an.

In den eigenen Versuchen mit Luganigabrät, das einem Rohwurstbrät entspricht, konnte durch die hermetische Verpackung keine Reifung erfolgen. Trotzdem kam es zu keiner Vermehrung der beiden Yersinienstämme. Dies lässt darauf schliessen, dass selbst in Rohwürsten mit verzögerter Reifung nicht mit einer Vermehrung von *Y. enterocolitica* zu rechnen ist.

IV.2.2. Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Hackfleisch mit unterschiedlicher Begleitflora sowie mit und ohne Schutzgas

Die eigenen Untersuchungen zeigten, dass die Vermehrung von *Y. enterocolitica* in Hackfleisch nicht nur von der Lagerungstemperatur abhängig war, sondern auch durch die Begleitflora und Verpackungsart (mit und ohne Schutzgas) beeinflusst wurde.

Der Einfluss der Begleitflora lässt sich am deutlichsten an den Ergebnissen der Lagerungsversuche ohne Schutzgas darstellen.

Bei 1° C waren die Unterschiede weniger ausgeprägt. Die Vermehrung betrug hier innert 14 Tagen 1 Zehnerpotenz, wobei sich im keimhaltigen Hackfleisch nur 1 Stamm (0:9) vermehrte. Deutlicher waren die Differenzen bei einer Temperatur von 4° C, und zwar erreichten die Yersinien nach 2 Wochen einen Anstieg im keimarmen Hackfleisch um 4 und im keimhaltigen Hackfleisch nur um 1-2 Zehnerpotenzen.

Bei 10° C betrug die Vermehrung des Erregers innerhalb 1 Woche im keimarmen Hackfleisch 5 Zehnerpotenzen, während er sich im keimhaltigen Hackfleisch nur um 2 Zehnerpotenzen anreichern konnte.

Betrug die Lagerungstemperatur 15° C, so war auffällig, dass nach 1 Tag sowohl im keimarmen als auch im keimhaltigen Hackfleisch ein Anstieg um ca. 1 Zehnerpotenz zu beobachten war. Danach wurde offensichtlich die weitere Entwicklung der Yersinien durch die Begleitflora gehemmt. Im keimarmen Hackfleisch stiegen die Yersinienzahlen innert 4-5 Tagen um 5 Zehnerpotenzen an, während im gleichen Zeitraum im keimhaltigen Hackfleisch nur eine Vermehrung um 2-3 Zehnerpotenzen erreicht wurde.

Ähnliches war auch beim Serotyp 0:9 bei 10° C zu beobachten, da innerhalb des 1. Tages die Vermehrung der Yersinien im keimhaltigen Hackfleisch ebenfalls 1 Zehnerpotenz betrug und

danach erst ein Einfluss der Begleitflora erkennbar war.

Eine Erklärung dafür dürfte darin zu sehen sein, dass der Anteil der Enterobakteriazeen und Pseudomonaden an der Gesamtflora im Ausgangsmaterial nur geringfügig höher als der der Yersinien war und sich daher die kompetitive Wirkung der Begleitflora erst bei stärkerer Vermehrung der gramnegativen Keime bemerkbar machte.

Vergleichbare Untersuchungen über die Vermehrung von pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen in rohem, zerkleinertem Fleisch bei den Temperaturen 0° - 5° C finden sich bei Hanna et al. (1977 e), Heim et al. (1985) sowie Heinrich (1985). Die Arbeit von Leistner et al. (1975) lässt sich nicht heranziehen, da detaillierte Angaben über Keimzahlen und Taxonomie der verwendeten *Yersinia*-Stämme fehlen.

Heim et al. (1985) und Heinrich (1985) führten Lagerungsversuche bei 4° C nur über einen Zeitraum von 24 Stunden bzw. 3 Tagen durch und konnten dabei keine Vermehrung der Yersinien beobachten. Für diese relativ kurzen Zeiträume entspricht dies auch den eigenen Ergebnissen.

Hanna et al. (1977 e) untersuchten die Temperaturbereiche 0°, 1° und 5° C. Die Vermehrungstendenz des von ihnen verwendeten pathogenen *Y. enterocolitica*-Stammes (ATCC Nr. 23715) entsprach unseren Ergebnissen im keimarmen Hackfleisch bei 1° bzw. 4° C. Die Autoren geben zwar keine Keimzahlen für die Begleitflora an, verwendeten jedoch aseptisch gewonnenes Fleisch, so dass man davon ausgehen kann, dass die Begleitflora in diesen Versuchen gering war. Weitere Untersuchungen dieser Autoren mit dem gleichen pathogenen Stamm wurden bei 7° C durchgeführt und sie stellten bei einem Versuch nach 5 Tagen einen Anstieg um 4 und bei einem weiteren Versuch nach 10 Tagen einen Anstieg um 7 Zehnerpotenzen fest. Dies entspricht den eigenen Untersuchungen bei 10° C, bei denen die Yersinien innerhalb von 5 Tagen einen Anstieg um 5 Zehnerpotenzen und nach 7 Tagen um 5,5 Zehnerpotenzen erreichten. Eine längere Bebrütung bei 10° C wurde in den eigenen Versuchen nicht vorgenommen. Ein weiterer von Hanna et al. (1977 e) getesteter *Y. enterocolitica*-Stamm (ATCC Nr. 9610, der nach

Bergey's Manual (1984) dem pathogenen Serotyp 0:8 zuzuordnen ist) konnte sich dagegen nach 5 Tagen nur um 2 Zehnerpotenzen vermehren. Die Autoren vermuten, dass dies mit einer unterschiedlichen Empfindlichkeit von *Y. enterocolitica*-Stämmen gegenüber der Begleitflora zusammenhängt, da sie auf gekochtem Rindfleisch bei 7° C kein Unterschied zwischen den beiden Stämmen beobachteten.

Heim et al. (1985) bebrüteten mit *Y. enterocolitica* kontaminiertes Hackfleisch für 4 Stunden bei 22° C und beobachteten bei 2 von 4 Proben eine Verringerung um 1 Zehnerpotenz. Bei 25° C lagerten Hanna et al. (1977 e) aseptisch gewonnenes Fleisch während 24 Stunden und konnten eine Vermehrung der Yersinien um 4 Zehnerpotenzen feststellen.

Den Einfluss der Begleitflora auf die Entwicklung der Yersinien heben Fukushima (1986) und Fukushima und Gomyoda (1986) hervor. Fukushima (1986) führte an 4 Hackfleischproben, in denen er *Y. enterocolitica* 0:3 nachgewiesen hatte, Lagerungsversuche durch. Die Proben enthielten ausserdem sog. Umwelt-Yersinien (*Y. enterocolitica* Biotyp I, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*). Die Anfangsbegleitflora lag zwischen 10^5 und 10^6 Keime/g und die Ausgangswerte für den Serotyp 0:3 betrugen höchstens 10^4 Yersinien/g. Während 3-wöchiger Bebrütung bei 6° C konnte nur bei 1 Probe mit 10^3 *Y. enterocolitica*-0:3/g ein Anstieg um 1 Zehnerpotenz festgestellt werden, der bereits nach 5 Tagen vorhanden war. In den übrigen Proben konnte der Autor keine Vermehrung feststellen. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass in der einen Probe der Ausgangswert für die Umwelt-Yersinien um 1 Zehnerpotenz niedriger lag als für den Serotyp 0:3, während in den anderen Proben die Umwelt-Yersinien gleiche oder höhere Ausgangskeimzahlen als der Serotyp 0:3 aufwiesen und ihn in diesen Proben in seiner Entwicklung unterdrückten. Interessant ist, dass die Umwelt-Yersinien sich gegenüber den pathogenen Yersinien wesentlich stärker vermehren konnten.

In den von Fukushima und Gomyoda (1986) mit künstlich kontaminiertem Hackfleisch durchgeführten Versuchen bestätigte

sich, dass die sog. Umwelt-Yersinien sich parallel mit der übrigen Begleitflora bei 6° C deutlich vermehren. Eine geringe Vermehrung von *Y. enterocolitica*-0:3 war nur bei Beimpfungszahlen von mindestens 10⁵/g zu beobachten. Die Ausgangswerte für Enterobakteriazeen betrugen ca. 10⁶/g und für die Gesamtkeime 10⁶ bis 10⁸/g. Derartig hohe Gesamtkeim- und Enterobakteriazeenzahlen sind bei ordnungsgemäss, handelsüblich hergestelltem Hackfleisch nicht zu erwarten. Diese Versuche bestätigen aber insofern die eigenen Ergebnisse, als sich bei 4° C pathogene Yersinien auch bei einer Lagerung über längere Zeiträume in Gegenwart einer in Hackfleisch üblicherweise zu erwartenden Begleitflora höchstens um 1-2 Zehnerpotenzen vermehren konnten.

Der Einfluss der Begleitflora auf die Entwicklung der Yersinien wurde auch für andere Fleischprodukte beschrieben.

So berichten Raccach und Henningsen (1984), dass *Y. enterocolitica* (0:3 und 0:8) durch Milchsäurebakterien in autoklaviertem Wurstbrät bei 27° und 35° C gehemmt wurde.

Nielsen und Zeuthen (1985 a) prüften die Vermehrung von 2 *Y. enterocolitica*-Stämmen (0:3 und 0:9) in vakuumverpackter Brühwurst nach Bologna-*Art*. In aseptisch aufgeschnittener und verpackter Brühwurst konnten sich die Yersinien nach 4 Wochen bei 5° C um über 6 Zehnerpotenzen vermehren, während bei den Proben, die eine natürliche Keimkontamination beim Aufschneiden erhielten oder bei denen Laktobazillen zugeimpft wurden, keine Vermehrung der Yersinien festzustellen war.

Eine Hemmung von *Y. enterocolitica* (0:8) durch verschiedene gramnegative Keim-Spezies konnte auch von Schiemann und Olson (1984) in Bouillonkultur beobachtet werden.

Ueber die Wirkung von Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) auf *Y. enterocolitica* gibt es praktisch keine Literaturangaben. Lediglich Gill und Tan (1980) beschrieben die Hemmung von *Y. enterocolitica* (ohne nähere Angaben) durch CO₂-angereicherte Atmosphäre (20% CO₂, 80% Luft) auf Rindfleisch bei 3° C. Durch dieses Gasgemisch konnte die Generationszeit um den

Faktor 1,3 verlängert werden. Auch in den eigenen Untersuchungen ist die wesentliche Hemmwirkung dem CO₂-Anteil im Gasgemisch zuzuschreiben. Der hohe O₂-Anteil in diesem Gemisch wird in der Praxis verwendet, um die Metmyoglobin-Bildung, die zu einer entsprechenden Farbveränderung des Fleisches führt, zu verhindern bzw. zu verzögern. Eine deutliche Hemmwirkung des CO₂ auf die Yersinien war nur bei 4° C zu beobachten; hier fand keine Vermehrung der Erreger statt. Bei Temperaturen von 10° und 15° C waren die Unterschiede mit und ohne Schutzgas nicht mehr deutlich ausgeprägt.

Der stärkere Einfluss des CO₂ bei niedrigen Temperaturen auf die Begleitflora von Fleisch wurde von Adams und Huffmann (1972), Clark und Lentz (1969), Gill und Tan (1980) sowie Hess et al. (1980) beschrieben. Die Erklärung hierfür liegt darin, dass die antimikrobiellen Eigenschaften des CO₂ auf der Bildung von Kohlensäure beruhen und sich bei niedrigen Temperaturen mehr CO₂ in Wasser löst als bei höheren Temperaturen. Die Hemmung des CO₂ wirkt sich vor allem auf die gramnegative Verderbnisflora (Enterobakteriaceen und Pseudomonaden) aus (Adams und Huffmann 1972, Bailey et al. 1979, Hess et al. 1980, Huffmann et al. 1975, Sander und Soo 1978, Tändler und Heinz 1971 u.a.). Milchsäurebakterien werden dagegen kaum unterdrückt (Banks et al. 1980, Enfors et al. 1979, Hess et al. 1980, Lannelongue et al. 1982). Dies bestätigte sich auch in den eigenen Untersuchungen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass CO₂ nur bei Temperaturen unter 10° C eine deutliche Hemmwirkung auf die Entwicklung von *Y. enterocolitica* in Hackfleisch ausübt. Demgegenüber hatte eine sich stark vermehrende Begleitflora stets einen negativen Einfluss auf die Vermehrung der Yersinien.

IV.2.3. Vergleich des Wachstumsverhaltens von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in Kalbsbratwurstbrät und in keimhaltigem Hackfleisch ohne Schutzgas

Die Ausgangskeimzahlen und die inokulierte *Y. enterocolitica*-Zahl waren im Kalbsbratwurstbrät und im Hackfleisch gleich (Abb. 7). Ebenso waren die Enterobakteriazeen-Zahlen zu Beginn der Lagerung in beiden Halbfabrikaten annähernd gleich, und nur die Pseudomonaden-Zahl lag im Kalbsbratwurstbrät etwa 1 Zehnerpotenz höher (Abb. 8).

Der a_w -Wert betrug für das Kalbsbratwurstbrät 0,98 und für das Hackfleisch 0,99. Als pH-Ausgangswert wurde für das erste Produkt 5,8 und für das zweite 5,65 gemessen. Während der a_w -Wert sich im Verlauf der Lagerung nicht änderte, konnte bei dem pH-Wert, vor allem im Hackfleisch, ein Absinken beobachtet werden (Abb. 9).

Die Abbildung 7 zeigt, dass der 0:3-Stamm bei den Temperaturen 4°, 10° und 15° C im Kalbsbratwurstbrät deutlich höhere Endkeimzahlen als im Hackfleisch erreichte. Bei dem 0:9-Stamm, der sich im Hackfleisch besser vermehrte als der 0:3-Stamm, trifft diese Beobachtung nur für die Temperaturen 10° und 15° C zu. Gleichzeitig lassen die Wachstumskurven erkennen, dass die beiden Yersiniastämme sich zu Beginn der Lagerungsversuche zunächst etwas schneller im Hackfleisch vermehrten, dann aber bei den höheren Temperaturen (10° und 15° C) gegenüber der Vermehrung im Kalbsbratwurstbrät deutlich abfielen.

Vergleicht man das Wachstumsverhalten der Yersinien mit den Enterobakteriazeen der Begleitflora, so ist festzustellen, dass im Kalbsbratwurstbrät die Entwicklung in allen Temperaturbereichen parallel verläuft (Abb. 1). Im Hackfleisch (Abb. 3-6) dagegen war stets ein stärkeres Wachstum der übrigen Enterobakteriazeen zu beobachten. Die Abbildung 8 zeigt, dass die Gesamt-Enterobakteriazeenzahl im Hackfleisch steiler als im Kalbsbratwurstbrät anstieg. Ebenso vermehrten

sich die Pseudomonaden im Hackfleisch schneller als im Brät. Demgegenüber waren keine wesentlichen Unterschiede in der Entwicklung der Gesamtkeimzahl festzustellen, wenn auch die Vermehrung im Hackfleisch zu Beginn der Lagerung etwas schneller abzulaufen schien (Abb. 7).

Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Begleitflora im Kalbsbratwurstbrät sich nicht so gut wie im Hackfleisch vermehren konnte und daher hier die kompetitive Wirkung gegenüber den Yersinien geringer war.

Neben der Entwicklung der Begleitflora scheint auch der pH-Verlauf einen Einfluss auf die Vermehrung von *Y. enterocolitica* auszuüben. In der Abbildung 9 sind die während der Lagerung im Kalbsbratwurstbrät und im Hackfleisch gemessenen pH-Werte aufgezeichnet. Im Brät mit einem Ausgangswert von pH 5,8 kam es lediglich bei 10° und 15° C zu einem leichten pH-Abfall auf 5,6 bis 5,7. Im Hackfleisch dagegen fiel der pH von anfänglich 5,6 - 5,7 bereits bei 1° C nach 14-tägiger Lagerung auf 5,4 ab. Bei 4°, 10° und 15° C verlief diese pH-Senkung schneller und bei 15° C war schon nach 2 Tagen der Tiefstwert von pH 5,3 erreicht.

Da sich im Hackfleisch trotz der beschriebenen pH-Senkung die Pseudomonaden und Enterobakteriazeen stärker als die Yersinien vermehren konnten, ist davon auszugehen, dass diese pH-Unterschiede Auswirkungen auf die kompetitiven Wechselbeziehungen zwischen den Yersinien und der Begleitflora hatten.

IV.3. Zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse

Es ist festzustellen, dass, ebenso wie in anderen europäischen Ländern, auch in der Schweiz *Y. enterocolitica*-Serotyp 0:3 häufig auf Schweinetoisillen vorkommt.

In den 125 untersuchten rohen Fleischhalbfabrikaten wurden dagegen keine pathogenen *Yersinien* nachgewiesen. Auch dies entspricht den Beobachtungen aus anderen Ländern, in denen pathogene Stämme nur selten in rohem Fleisch und Fleischzubereitungen gefunden wurden. Untersuchungen aus Oesterreich und Holland, bei denen in 12% bzw. 19% der untersuchten Hackfleischproben resp. Hackfleischzubereitungen pathogene *Yersinien* gefunden wurden, lassen vermuten, dass regionale Unterschiede bestehen.

Nach bisherigen Erkenntnissen sind bei *Y. enterocolitica* hohe Keimzahlen notwendig, um Erkrankungen des Menschen auszulösen. Derartige Keimzahlen sind in rohen Fleischzubereitungen aus nachfolgenden Gründen nur in Ausnahmefällen zu erwarten:

Die eigenen Untersuchungen zeigen zunächst, dass pathogene *Yersinien* bei den in der Praxis üblichen Lagerungstemperaturen (unter 4° C) und Aufbewahrungszeiten sich kaum ausreichend vermehren werden. Die auf rohem Fleisch und in rohen Fleischfabrikaten zu erwartende kompetitive Begleitflora wirkt sich auch bei höheren Temperaturen hemmend auf die Entwicklung der pathogenen *Yersinien* aus. Zumindest gilt dies für geringe *Yersinia*-Ausgangskeimzahlen. Zieht man in Betracht, dass in rohen Fleischzubereitungen pathogene *Y. enterocolitica*-Stämme auch nach Anreicherung selten nachzuweisen waren, so kann man davon ausgehen, dass massive Kontaminationen nur in Ausnahmefällen zu erwarten sind, wobei - wie bereits erwähnt - regionale Unterschiede bestehen können.

Aus den bisher vorliegenden Daten lässt sich ableiten, dass zwischen den beim Schwein vorkommenden pathogenen Yersinien und den Erkrankungen beim Menschen eine direkte Verbindung durch Verzehr von rohem Fleisch nur in seltenen Ausnahmefällen zu erwarten ist. Möglich sind Kreuzkontaminationen zwischen rohem Fleisch und gekochten keimarmen Fleischzubereitungen, in denen sich die Erreger wegen der fehlenden kompetitiven Flora wesentlich besser vermehren können. Allerdings ist auch hierbei zu berücksichtigen, dass die gesamte Keimflora des rohen Fleisches mit auf das erhitzte Produkt übertragen wird, wodurch dann wiederum kompetitive Effekte zu erwarten sind. Es ist daher eher wahrscheinlich, dass eine Kontamination von Lebensmitteln mit *Y. enterocolitica* durch Menschen, die erkrankt oder Ausscheider sind, ein wesentliches Risiko darstellen.

Die eigenen Untersuchungen zeigen auch, dass die kompetitiven Effekte zwischen der Begleitflora und den Yersinien von "Intrinsic factors" in Lebensmitteln wie pH-Wert und a_w -Wert sowie von bestimmten Zusatzstoffen wie Nitrit (Process factors) stark beeinflusst werden. Daher sind Aussagen über die zu erwartende Vermehrung von pathogenen Yersinien in Lebensmitteln bei verschiedenen Temperaturen nur bei sorgfältiger Berücksichtigung dieser Faktoren möglich. Allein schon bei dem gleichen Produkt, wie z.B. Hackfleisch, werden sich nicht nur Unterschiede in der Keimflora sondern auch im pH-Wert, der im Fleisch bekanntlich Schwankungen zeigt, auswirken. Gerade aber über den Einfluss der verschiedenen Intrinsic- und Process-factors auf die Vermehrung der Yersinien und die kompetitiv wirksame Begleitflora liegen bisher nur wenige Angaben vor.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In 54% von 50 untersuchten Schweinetonsillen wurden *Y. enterocolitica* und in 32% der Tonsillen pathogene Stämme (Serotyp 0:3) nachgewiesen. Aus 78% von 125 rohen Fleischhalbfabrikaten liessen sich *Y. enterocolitica*, jedoch keine Serotypen, die als humanpathogen gelten, isolieren.

Von den geprüften Nachweisverfahren erbrachte eine 9-tägige Voranreicherung bei 4° C in Trypticase-Soja-Bouillon (TSB) mit anschliessender Anreicherung bei 22° C für 4 Tage in Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS) die besten Ergebnisse. Durch eine parallele Voranreicherung in TSB bei 10° C (3 Tage) und die Verwendung von Modifizierter-Rappaport-Bouillon (MRB) als Anreicherungsmedium konnten allerdings einige zusätzliche *Y. enterocolitica*-Stämme isoliert werden. Für die Anzüchtung auf festen Medien war der Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) dem Wismut-Sulfit-Agar (BS) überlegen.

Die Vermehrung von 2 *Y. enterocolitica*-Stämmen (0:3 und 0:9) wurde bei 1°, 4° und 10° und 15° C in keimarmem und keimhaltigem Hackfleisch mit und ohne Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) sowie in Luganiga- und Kalbsbratwurstbrät geprüft.

Im Hackfleisch wurde die Vermehrung der Yersinien sowohl durch die Begleitflora als auch durch die Verwendung von Schutzgas beeinflusst.

Im keimarmen Hackfleisch ohne Schutzgas kam es bei 4°, 10° und 15° C zu einer deutlichen Vermehrung der Yersinien. Der Anstieg betrug 4 (4° C) bzw. 5 (10° und 15° C) Zehnerpotenzen. In den Packungen mit Schutzgas kam es erst ab 10° C zu einer Vermehrung, und bei 15° C war kein Unterschied im Wachstumsverlauf der Yersinien zwischen den Packungen mit und ohne Schutzgas festzustellen.

Im keimhaltigen Hackfleisch war die Entwicklung der Yersinien deutlich vermindert. In den Packungen ohne Schutzgas vermehrten sie sich bei 4° C um höchstens 2 Zehnerpotenzen. Bei 10° und 15° C betrug der Anstieg nur 2-3 Zehnerpotenzen. Durch Schutzgas wurde die Vermehrung der Yersinien zusätzlich verringert.

Im Luganigabrät konnten sich die Yersinien bei keiner der geprüften Temperaturen anreichern. Hier wirkte sich neben der niedrigen Wasseraktivität (a_w : 0,97) der Nitritzusatz (2,1% Nitritpökelsalz) hemmend auf die Vermehrung der Yersinien aus.

Im Kalbsbratwurstbrät (a_w : 0,98) mit 30% Wasserzusatz und 1,5% Kochsalz kam es bereits bei 4° C zu einer Vermehrung der Stämme um 2 Zehnerpotenzen. Bei 10° und 15° C betrug der Anstieg 4 Zehnerpotenzen.

Die Untersuchungen zeigen, dass die kompetitiven Effekte zwischen den Yersinien und der Begleitflora, die einen entscheidenden Einfluss auf die Vermehrung der Yersinien haben, von den Intrinsic factors in Lebensmitteln wie pH-Wert und a_w -Wert sowie von bestimmten Zusatzstoffen wie Nitrit (Process factors) stark beeinflusst werden. Daher sind Aussagen über die zu erwartende Vermehrung von pathogenen Yersinien in Lebensmitteln bei verschiedenen Lagerungstemperaturen nur bei sorgfältiger Berücksichtigung dieser Faktoren möglich.

Die Ergebnisse werden im Hinblick auf die Epidemiologie der *Y. enterocolitica*-Enteritiden des Menschen diskutiert.

VI. TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Tabelle 1

Anreicherungsmedien, Bebrütungstemperatur und -dauer für
den Nachweis von *Y. enterocolitica*

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Medium	Temperatur u. Bebrütungsdauer	Autor
Phosphat-Puffer-Lösung	5° C, 21 d	Tsubokura et al. 1973
Modifiziertes Rappaport-Medium	22°-29° C, 2-4 d	Wauters 1973
Selenit-Bouillon mit Novobiocin	22° C, ca. 16 h	Büsser 1974
Phosphat-Puffer-Lösung mit Sorbitol und Gallensalzen	4° C, 7-21 d	Mehlmann et al. 1978
Christenson's-Kaltanreicherungs- Medium	4° C, 14 d	Schiemann 1978 a,b
Butterfields-Phosphat-Puffer	4° C, 14 d	Schiemann u. Toma 1978
Modifizierte Selenit-Medien	22° C, 2-3 d	Lee et al. 1980
Novobiocin-Polymyxin-Kristall- violett-Bouillon	18° C, 4 d	Park 1980
Modifizierte Gram-Negativen- Bouillon nach Hajna	25° C, 1 d; dann 4° C, 30 d	Van Landuyt et al. 1981
Gram-Negativen-Bouillon nach Hajna	4° C, 18 h; dann 35° C, 6 h	Traub u. Spohr 1982
Phosphat-Puffer-Lösung mit Sorbitol, Gallensalzen u. Pepton	22° C, 6 u. 10 d	Weagant u. Kaysner 1983
Phosphat-Puffer-Lösung mit Pepton und Mannitol	4° C, 7-21 d	Fukushima et al. 1984 a
Hefeextrakt-Casein-Cystin- Bouillon	4° C, 21 d	Fukushima et al. 1984 b
Cellobiose-Cephalotin- Ampicillin-Bouillon	15° C, 4 d	De Felip et al. 1985

Tabelle 2

Zweistufige Anreicherungsverfahren zum Nachweis von
Y. enterocolitica

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Medium	Temperatur u. Bebrütungsdauer	Autor
Phosphat-Puffer-Lösung Ueberimpfung in Modifiziertes Rappaport-Medium	4° C, 14-21 d 25° C, 2 d	Feeley et al. 1976
Christenson's-Kaltanreicherungs-Medium Ueberimpfung in Modifiziertes Rappaport-Medium	4° C, 14 d 22° C, 2 d	Schiemann 1978 a,b
Butterfields-Phosphat-Puffer Ueberimpfung in Modifiziertes Rappaport-Medium	4° C, 14 d 23° C, 5 d	Schiemann und Toma 1978
Phosphat-Puffer-Lösung mit Sorbitol und Gallensalzen Ueberimpfung in Selenit-Bouillon	4° C, 7-28 d 25° C, 2 d	Norberg 1981
PSB* Ueberimpfung in PSTA**	4° C, 30 d 28° C, 2 d	Vidon und Delmas 1981
Hefeextrakt-Bengalrosa-Bouillon Ueberimpfung in Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon	4° C, 9 d 22° C, 5 d	Schiemann 1982
Trypticase-Soja-Bouillon Ueberimpfung in Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon	22° C, 1 d und 2°-4° C, 4-7 d 22° C, 3-5 d	Schiemann 1983 b
Pepton-Hefeextrakt-Bouillon Ueberimpfung in Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon	15° C, 1-2 d oder 4° C, 7-9 d 22°-25° C, 3-5 d	Schiemann 1984 b

Nährmedium enthält u.a.: * Paston u. Cycloheximid

** Paston, Saccharose, Tris u. Ampicillin

Tabelle 3

Anwendung einer KOH-Behandlung in Kombination mit Anreicherungsmedien zum Nachweis von

Y. enterocolitica

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Medium	Temperatur und Bebrütungsdauer	KOH-Behandlung	Autor
Phosphat-Puffer-Lösung mit und ohne Sorbitol und Gallensalzen	26° C, 1-2 d oder 4° C, 7-10 d	→ 0,04 ml in 0,1 ml 0,5% KOH-Lösung nach einigen Sek. ausstreichen	Aulizio et al. 1980
Novobiocin-Polymyxin-Kristallviolett- Bouillon	18° C, 4 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,25% KOH-Lösung nach einigen Sek. ausspatein	Park 1980
Phosphat-Puffer-Lösung	4° C, 21 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,5% KOH-Lösung innerhalb 1 Min. ausstreichen	Doyle et al. 1981
Modifiziertes Selenit-Medium	23° C, 2-3 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,5% KOH-Lösung nach einigen Sek. ausstreichen	Stern 1981
Phosphat-Puffer-Lösung	25° C, 1-3 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,25% (0,5%) KOH-Lösung nach 2 Min. (15 Sek.) ausspatein	Doyle u. Hugdahl 1983
Cellobiose-Cephalotin-Ampicillin- Bouillon	15° C, 4 d	→ 1 ml in 9 ml 0,5% KOH-Lösung innerhalb 15 Sek. ausspatein	De Felip et al. 1985
Lebensmittel-Homogenisate und dekadische Verdünnungsstufen	direkt	→ 0,5 ml in 0,5 ml 0,72% KOH-Lösung nach 30 Sek. ausspatein	Fukushima 1985
Phosphat-Puffer-Lösung mit Sorbitol, Gallensalzen und Pepton	26°, 3 d	→ 1 ml in 9 ml 0,5% KOH-Lösung sofort ausspatein	Marinelli et al. 1985
Phosphat-Puffer-Lösung	4° C, 21 d	→ Überimpfung in	
Modifiziertes Rappaport-Medium	27° C, 2 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,5% KOH-Lösung innerhalb 1 Min. ausstreichen	Moustafa et al. 1983 a
Phosphat-Puffer-Lösung mit Sorbitol und Gallensalzen	4° C, 9-21 d	→ Überimpfung in	
Gallensalz-Oxalat-Sorbitose-Bouillon	22° C, 5 d	→ 0,5 ml in 4,5 ml 0,25 % KOH-Lösung nach 2 Min. ausstreichen	Delmas und Vidon 1985

Tabelle 4

Feste Selektivnährböden zur Anzüchtung von *Y. enterocolitica* aus Anreicherungsmedien

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Medium	Temperatur u. Bebrütungsdauer	Autor
Salmonella-Shigella- Desoxycholat-Agar	29° C, 1 d	Wauters 1973
DHL-Agar*	25° C, 2 d	Leistner et al. 1975
Wismut-Sulfit-Agar	25° C, 3-5 d	Hanna et al. 1977 c
Mac Conkey-Agar mit Tween 80	25° C, 2 d	Lee 1977 b
Desoxyribonuklease-Agar mit Tween 80 und Sorbitol	25° C, 2 d	Lee 1977 b
Pectin-Agar	25° C, 2 d	Bowen und Kominos 1979
Cellobiose-Arginin- Lysin-Agar	25° C, 40 h	Dudley u. Shotts 1979
Laktose-Urea-Agar	29° C, 2 d	Oosterom 1979
Desoxycholat-Citrat- Mannitol-Agar	22° C, 3 d	Saari u. Janssen 1979
Cefsulodin-Irgasan- Novobiocin-Agar	32° C, 1 d oder 22° C, 2 d	Schiemann 1979 b
Urea-Glukose- Novobiocin-Agar	29° C, 3 d	Van Pee u. Stragier 1979
Y-Medium**	29° C, 2 d	Soltész et al. 1980
Hektoen-Agar mit Ampicillin	28° C, 2 d	Vidon u. Delmas 1981
DYS-Agar***	23° C, 36 h	Agbonlahor et al. 1982
Cellobiose-Cephalotin- Ampicillin-Agar	26° C, 2 d	De Felip et al. 1985
BABY 4-Agar****	29° u. 35° C, 2 d anaerob dann 29° u. 35° C, 1 d aerob	Bercovier et al. 1984

Nährmedium enthält u.a.: * Desoxycholat, Citrat, Laktose u. Saccharose
 ** Oxalat
 *** Arabinose, Lysin u. Arginin
 **** Sorbose, Metronidazol, Amphotericin B u. Novobiocin

Tabelle 5

Vorkommen von *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies auf Schweinetoisillen

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Proben- zahl	Positive Proben			Autor
	<i>Y. enterocolitica</i> pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5, 27	nicht- pathogen	andere <i>Yersinia</i> -Spezies <i>Y. i.</i> 1) <i>Y. fr.</i> 2) <i>Y. kr.</i> 3)	
163	11	3	1	Narucka u. Westendoorp 1977 Bockemühl u. Roth 1978 Pedersen 1979 Christensen 1980 b Christensen 1980 b Christensen 1980 b Hanna et al. 1980 Weber und Knapp 1981 Weber u. Lembke 1981 Stengel 1983 Weber et al. 1983 Nesbakken 1985 Nesbakken u. Kapperud 1985 De Boer et al. 1986
55	-	10	-	
282 ^{m)}	84	-	-	
444	74	-	-	
179	6	-	-	
99	1	-	-	
27	-	-	8	
480	36	9	-	
115	24	9	-	
103	10	4	-	
232	33	8	-	
47	28	-	-	
461	146	-	1	
40	3	4	29 ^{a)} 44	
2727	456	47	2	
			59	

1) *Y. intermedia*; 2) *Y. frederiksenii*; 3) *Y. kristensenii*

a) *Yersinia*-positive Proben; m) Rachtentupfer

Tabelle 6

Vorkommen von Y. enterocolitica und anderen Yersinia-Spezies auf Schweineezungen

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Proben- zahl	Positive Proben				Autor
	Y. enterocolitica		andere Yersinia-Spezies		
	pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	nicht- pathogen	Y.i. 1) Y.fr. 2)	Y.kr. 3)	
302	165 3				Wauters 1979
37	11 - -	13			Schiemann 1980
31	2 - 6	8			Doyle et al. 1981
20	12 - -	5			Schiemann 1982
74	- - -	8			Doyle u. Hugdahl 1983
334 ¹⁾	12		55 ^{a)}		Aldova u. Svandova 1984
10	- - -	1	-	2	Harmon et al. 1984
100	- - -	2			Figura et al. 1985
55 ^{c)}	- - -	3			Figura et al. 1985
47	26				Nesbakken 1985
20	- - -		16 ^{a)}		De Boer et al. 1986
1030	228 3 6 8	58			

1) Y. intermedia; 2) Y. frederiksenii; 3) Y. kristensenii

a) Yersinia-positive Proben; 1) 1142 Zungen in Pools untersucht; c) vom Wildschwein

Tabelle 7

Isolierung von Y. enterocolitica und anderen Yersinia-Spezies aus Schweinefleisch

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Proben- zahl	Positive Proben		Autor
	Y. enterocolitica pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	andere Yersinia-Spezies Y.i. 1) Y.fr. 2) Y.kr. 3) nicht- pathogen	
29	1 - - -	9	Leistner et al. 1975
163	- 1 - -	-	Narucka u. Westendoorp 1977
300	2 - - -	2	Asakawa et al. 1979
76	1 - - -	29	Schiemann 1980
419	- 7 2 -	-	Heim und Heim 1982
54	3 ^{f)}		Myers et al. 1982
12	- - - -	-	Harmon et al. 1984
70	2 - - -	48	Breuer u. Kniewallner 1985
261	3 ^{j)} - - j)	97	Kaneko et al. 1985
1384	6 8 2 -	185	

1) Y. intermedia; 2) Y. frederiksenii; 3) Y. kristensenii

f) Keine Angabe von Bio- oder Serotyp; j) 0:3 und 0:5,27 in 3 Proben

Tabelle 8

Isolierung von *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies aus Rind- u. Schafffleisch

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Material	Proben- zahl	Positive Proben			Autor
		<i>Y. enterocolitica</i> pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	nicht- pathogen	andere <i>Yersinia</i> -Spezies <i>Y. i.</i> 1) <i>Y. fr.</i> 2) <i>Y. kr.</i> 3)	
Rindfleisch	61	1 - 1 -	13	— — —	Inoue u. Kurose 1975
"	37	- - -	4	— 6 —	Leistner et al. 1975
"	107	- - -	-	— 10 —	Hanna et al. 1976
"	?	- - -	(2)	— — —	Caprioli et al. 1978
"	40	- - -	-	— — —	Stern 1981
"	30	- - -	22	9 6 5	Breuer u. Kniewallner 1985
"	69	- - -	25	— — —	Kaneko et al. 1985
Schafffleisch	30	- - -	-	— 2 —	Hanna et al. 1976
"	54	- - -	-	— — —	Heim und Heim 1982
Fleisch ^{L)}	?	- - (3) -	23 ^{b)}	— — —	Aldova et al. 1981
Fleisch ^{L)}	?	- - - (1)	(2)	(1) - (1)	Greenwood u. Hooper 1985
	428	1 - 1 -	64		

1) *Y. intermedia*; 2) *Y. frederiksenii*, 3) *Y. kristensenii*

b) Isolierte Stämme, kein Hinweis auf die Anzahl positiver Proben; L) Keine Tierartangabe

Tabelle 9

Isolierung von *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies aus Geflügelfleisch

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Material	Proben- zahl	Positive Proben			Autor
		<i>Y. enterocolitica</i> pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	nicht- pathogen	andere <i>Yersinia</i> -Spezies <i>Y.i.</i> 1) <i>Y.fr.</i> 2) <i>Y.kr.</i> 3)	
Geflügel- fleisch	121	-	-	35	Leistner et al. 1975
"	?	-	-	(2)	Caprioli et al. 1978
"	83	-	-	41	Breuer u. Kniwallner 1985
"	130	3	3	5	Stengel 1985
Hühnerfleisch	82	-	1	19	Norberg 1981
"	108 ^{h)}	-	-	68	De Boer et al. 1982
"	120	-	-	262 ^{b)}	Fukushima 1985
"	136	1 ^{d)}	-	58	Kaneko et al. 1985
Truthahn- fleisch	75	3 ^{f)}			Guthertz et al. 1976
	855	3	3	5	226

1) *Y. intermedia*; 2) *Y. frederiksenii*; 3) *Y. kristensenii*a) *Yersinia*-positive Proben; b) Isolierte Stämme, kein Hinweis auf die Anzahl positiver Proben;

f) Keine Angabe von Bio- oder Serotyp; g) oder 0:5,27; h) auch Hühnerfleischprodukte

Isolierung von *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies aus Hackfleisch u. -erzeugnissen

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Material	Proben- zahl	Positive Proben			Autor
		<i>Y. enterocolitica</i> pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	nicht- pathogen	andere <i>Yersinia</i> -Spezies Y.i. 1) Y.fr. 2) Y.kr. 3)	
Hackfleisch	60 S 130L)	-	-		Narucka u. Westendoorp 1977
"	15 S	1 1 - 1	9		Oosterom 1979
"	16 ^{d)}	- - 1 -	8		Schiemann 1980
"	168 R	- - - -	-		Hänninen u. Raevuori 1981
"	35 S	- - - -	28		Hurvell et al. 1981
"	13 S+R	- - - -	3		Hurvell et al. 1981
"	100 S+R	- - - -	3		Hurvell et al. 1981
"	125 S	12 - - -	86	49	Breuer u. Kniewallner 1985
"	120 R	5 - - -	337 ^{b)}	39 ^{b)}	Fukushima 1985
"	350 S	- - - -	418 ^{b)}	66 ^{a)} 185 ^{b)}	Fukushima 1985
"	111 S	- - - -	-	68 ^{a)} 158 ^{b)}	Stengel 1985
"	60 R	- - - -	-	-	De Boer et al. 1986
Hackfleisch- erzeugnisse	294 ^{e)} 200 ^{d)}	- - - -	-	81 ^{a)}	De Boer et al. 1986
"		18 13 - 7	-	25 ^{a)}	Tamminga et al. 1980
	1797	37 14 1 8	137		Beumer et al. 1983

1) *Y. intermedia*; 2) *Y. frederiksenii*; 3) *Y. kristensenii*S = vom Schwein; R = vom Rind; S+R = vom Schwein und Rind gemischt; a) *Yersinia*-positive Proben;

b) Isolierte Stämme, kein Hinweis auf die Anzahl positiver Proben; d) vom Rind und vom Schwein;

e) Rohe und erhitzte Produkte; L) Keine Tierartangabe

Isolierung von *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies aus Fleischerzeugnissen

- Zusammenstellung der Literaturangaben -

Material	Proben- zahl	Positive Proben			Autor
		<i>Y. enterocolitica</i> pathogen 0:3 0:9 0:8 0:5,27	nicht- pathogen	andere <i>Yersinia</i> -Spezies <i>Y. i.</i> 1) <i>Y. fr.</i> 2) <i>Y. kr.</i> 3)	
Rohwurstbrät	28	-	1	— 1 —	Leistner et al. 1975
Rohwurst	10	-	-	-	De Boer et al. 1986
Mettwurst	200	-	28	8	Breuer u. Kniewallner 1985
Wurst	?	-	(3)	6	Caprioli et al. 1978
Schinken	?	-	(1)	-	Caprioli et al. 1978
Schinken, Wurst	492	-	-	-	Asakawa et al. 1979
Schinken	150	-	6	-	Asakawa et al. 1979
Schinken	502	1	2 ^{b)}	-	Fukushima et al. 1979
Schweine- fleischprodukte	69 ^{e)}	-	5	-	Schiemann 1980
"	65 ^{k)}	-	-	-	Christensen 1981
"	166 ^{e)}	-	56	17	Delmas u. Vidon 1985
"	152 ^{e)}	1	34 ^{b)}	41 ^{a)} 12 ^{b)} 20 ^{b)}	Nesbakken et al. 1985
Fleischpaste- konserve L)	?	(1)	-	-	Aldova et al. 1981
gekochtes Rind- fleisch	?	(1)	-	-	Greenwood u. Hooper 1985
	1834	2	96	-	

1) *Y. intermedia*; 2) *Y. frederiksenii*; 3) *Y. kristensenii*

a) *Yersinia*-positive Proben; b) Isolierte Stämme, kein Hinweis auf die Anzahl positiver Proben;

e) Rohe und erhitzte Produkte; k) Hackfleisch, Wurst, gesalzene Produkte; l) Keine Tierartangabe

Tabelle 12

Die in den biochemischen Untersuchungen verwendeten Reaktionen
sowie ihre taxonomische Bewertung nach Bergey's Manual (1984)

Reaktionen*	Y.e.	Y.i.	Y.f.	Y.k.
Beweglichkeit 25° C	+	+	+	+
" 37° C	-	-	-	-
Lysin-Dekarboxylase 37° C	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+
Gelatine	-	-	-	-
Voges-Proskauer 25° C	+	+	+	-
" 37° C	-	-	-	-
Indol	d	+	+	d
Rhamnose	-	+	+	-
Saccharose	+	+	+	-
Melibiose	-	+	-	-
Sorbit	+	+	+	+
Raffinose	-	+	-	-
Katalase	+	+	+	+
Cytochromoxydase	-	-	-	-
Methylrot 37° C	+	+	+	+
Simmon's-Citrat 37° C	-	-	-	-
KCN 37° C	-	-	-	-
Malonat 37° C	-	-	-	-
Phenylalanin-Desaminase 37° C	-	-	-	-
Nitratreduktion	+	+	+	+
OF-Test	O/F	O/F	O/F	O/F
Glukose/Gas	+/w	+/w	+/w	+/w
H ₂ S	-	-	-	-
Arginin-Dihydrolase 37° C	-	-	-	-
Ornithin-Dekarboxylase	+	+	+	+
ONPG**	+	+	+	+
Lipase (Tween 80)	d	d	d	d
Desoxyribonuklease	d	-	-	-
Maltose	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	+
Inosit	+	+	+	+
D-Xylose	d	+	+	+
Aesculin	d	+	+	d
Salicin	v	+	+	v
Laktose	d	-	d	d
Adonit	-	-	-	-
Dulcit	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+

+ = ➔ 90% der Stämme sind positiv
 - = ➔ 90% der Stämme sind negativ

d = 11-89% der Stämme sind positiv

O/F = Oxidations-Fermentations-Test

w = schwach oder negativ

v = Stamm reagiert unterschiedlich

* = wenn nicht anders vermerkt, wurden die Tests bei 25° C durchgeführt

** = o-Nitrophenyl-β-D-Galaktopyranosid

Y.e. = Y. enterocolitica

Y.i. = Y. intermedia

Y.f. = Y. frederiksenii

Y.k. = Y. kristensenii

Tabelle 13

Einteilung von *Y. enterocolitica* in Biotypen nach
Bergey's Manual (1984)

Reaktionen	Biotyp				
	1	2	3	4	5
Lipase (Tween 80)	+	-	-	-	-
Desoxyribonuklease	-	-	-	+	+
Indol	+	+	-	-	-
Nitratreduktion	+	+	+	+	-
D-Xylose	+	+	+	-	-
Saccharose	+	+	+	+	d
Trehalose	+	+	+	+	-

+ = ≥ 90% der Stämme sind positiv

- = ≥ 90% der Stämme sind negativ

d = 11-89% der Stämme sind positiv

Tabelle 14

Nachweis von *Y. enterocolitica*, *Y. enterocolitica*-ähnlichen Organismen und atypischen Versinien in rohen Fleischhalbfabrikaten

Verteilung der nachgewiesenen *Versinia*-Spezies und atypischen Versinien in den positiven Proben

Material	Probenzahl unter- posi- sucht tiv	Anzahl isolierter Stämme				
		<i>Y. enterocolitica</i> Biotyp I Biotyp II	<i>Y. kristen- senii</i>	<i>Y. frederik- senii</i>	<i>Y. inter- media</i>	atypische Versinien*)
Schweinsbratwurst	45	37	8	5	8	3
Bauernbratwurst	20	12	2	-	4	2
Adrio	20	16	4	2	7	2
Luganiga	20	17	10	2	4	4
Saucisson	20	12	5	1	3	1
Total Proben	125	94	29	10	26	12
Total Stämme	174	94	29	10	26	12

*) Keiner der 4 *Versinia*-Spezies (*Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*) sicher zuzuordnen: 7 Stämme waren Melibiose und Raffinose positiv, 5 Stämme Raffinose und Laktose positiv.

Tabelle 15

Häufigkeit der aus Tonsillen isolierten *Y. enterocolitica*- und atypischen *Yersinia*-Stämme in Abhängigkeit vom Anreicherungsverfahren

Anreicherungsverfahren		Anzahl isolierter <i>Yersinia</i> -Stämme			
Voranreicherung	Anreicherung	<i>Y. enterocolitica</i> IV / 0:3	I	atypische*)	gesamt
4° C	BOS ¹⁾	14	11	7	32
10° C	BOS	5	5	4	14
4° u. 10° C	BOS	14	13	9	36
4° C	MRB ²⁾	9	5	2	16
10° C	MRB	8	1	-	9
4° u. 10° C	MRB	9	6	2	17
4° C	BOS u. MRB	16	12	8	36
10° C	BOS u. MRB	9	5	4	18
4° C u. 10° C	BOS u. MRB	16	14	10	40

*) Keiner der 4 *Yersinia*-Spezies (*Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*) sicher zuzuordnen; 1) Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS); 2) Modifizierter Rappaport-Bouillon (MRB)

Tabelle 16

Häufigkeit der aus rohen Fleischhalbfabrikaten isolierten *Y. enterocolitica*-
und anderen *Yersinia*-Stämme in Abhängigkeit vom Anreicherungsverfahren

Anreicherungsverfahren		Anzahl isolierter <i>Yersinia</i> -Stämme			
Voranreicherung	Anreicherung	<i>Y. enterocolitica</i> *)	<i>Y. intermedia</i> <i>Y. frederiksenii</i> <i>Y. kristensenii</i>	atypische**)	gesamt
4° C	BOS ¹⁾	83	43	11	137
10° C	BOS	75	38	5	118
4° u. 10° C	BOS	97	62	12	171
4° C	MRB ²⁾	3	4	1	8
10° C	MRB	3	2	-	5
4° u. 10° C	MRB	6	6	1	13
4° C	BOS u. MRB	83	46	11	140
10° C	BOS u. MRB	75	39	5	119
4° u. 10° C	BOS u. MRB	97	65	12	174

*) *Y. enterocolitica* Biotyp I (94 Stämme) und Biotyp II (3 Stämme); **) Keiner der 4 *Yersinia*-Spezies (*Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*) sicher zuzuordnen; 1) Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS); 2) Modifizierte-Rappaport-Bouillon (MRB)

Tabelle 17

Häufigkeit der aus Tonsillen isolierten *Y. enterocolitica*
IV/0:3- und anderen *Yersinia*-Stämme in Abhängigkeit
vom Selektivmedium

Anreicherungsmedium	Anzahl isolierter <i>Yersinia</i> -Stämme*)		
	Selektivmedium		
	CIN ¹⁾	BS ²⁾	CIN u. BS
BOS ³⁾	14/19	10/10	14/22
MRB ⁴⁾	9/8	7/0	9/8
BOS u. MRB	16/21	10/10	16/24

*) *Y. enterocolitica* Biotyp IV, Serotyp 0:3/*Y. enterocolitica* Biotyp I und atypische *Yersinien* (vergleiche Tabelle 15)

1) Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN)

2) Wismut-Sulfit-Agar (BS)

3) Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS)

4) Modifizierte-Rappaport-Bouillon (MRB)

Tabelle 18

Häufigkeit der aus rohen Fleischhalbfabrikaten isolierten,
nicht pathogenen Yersinia-Stämme in Abhängigkeit vom
Selektivmedium

Anreicherungsmedium	Anzahl isolierter Yersinia-Stämme*)		
	Selektivmedium		
	CIN ¹⁾	BS ²⁾	CIN u. BS
BOS ³⁾	154	105	171
MRB ⁴⁾	11	2	13
BOS u. MRB	157	105	174

*) Y. enterocolitica, Y. intermedia, Y. frederiksenii, Y. kristensenii und atypische Yersinien (vergleiche Tabelle 16)

1) Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN)

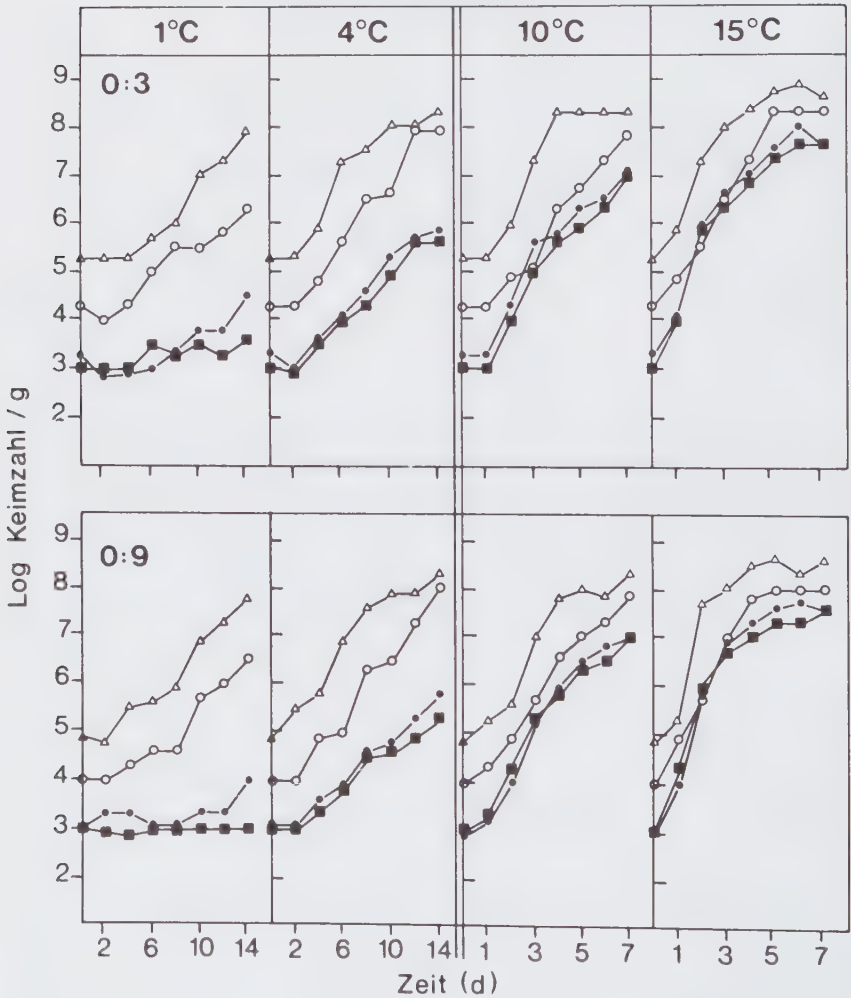
2) Wismut-Sulfit-Agar (BS)

3) Gallensalz-Oxalat-Sorbose-Bouillon (BOS)

4) Modifizierte-Rappaport-Bouillon (MRB)

Abbildung 1

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in
Kalbsbratwurstbrät ($a_w = 0,98$) bei ver-
schiedenen Lagerungstemperaturen



■—■ *Y. enterocolitica*
●—● Enterobakteriaceen

△—△ Gesamtkeimzahl
○—○ Pseudomonaden

Abbildung 2

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in
Luganigabré (a_w = 0,97) bei verschiedenen
Lagerungstemperaturen

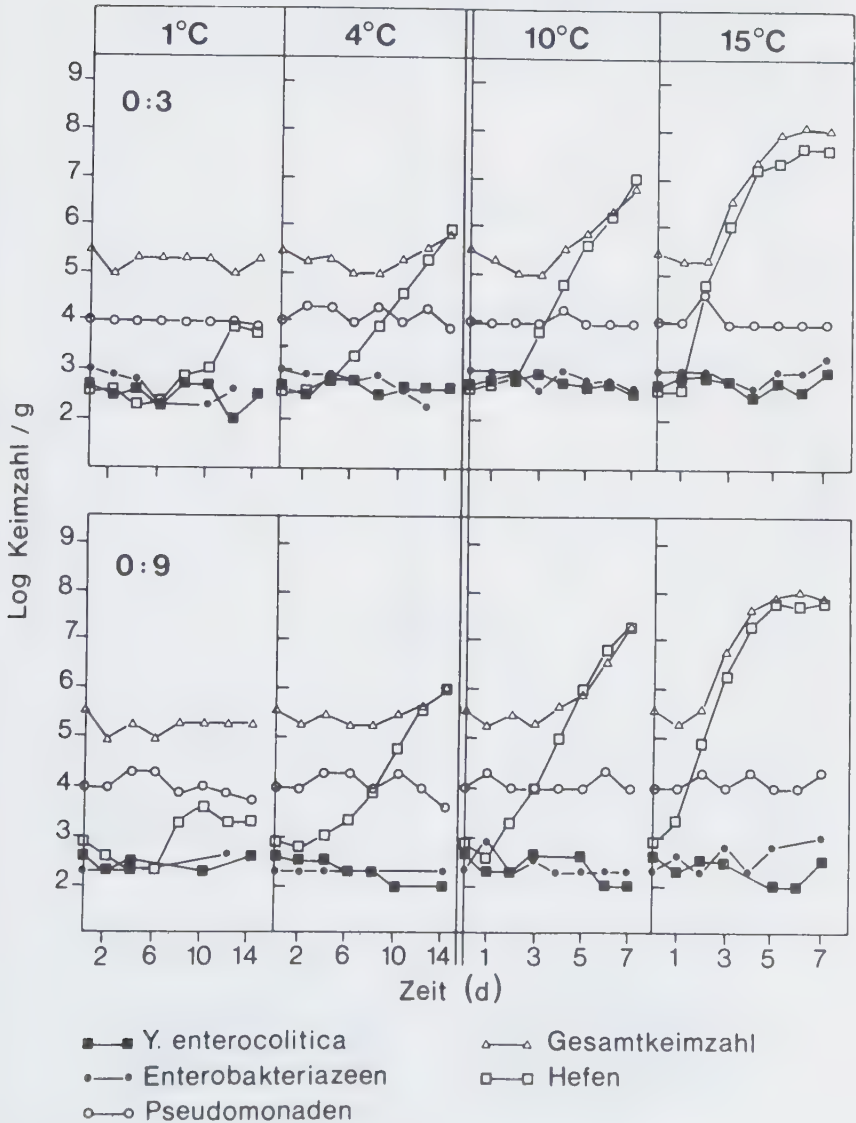


Abbildung 3

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in Hackfleisch
mit unterschiedlicher Ausgangskeimbelastung sowie mit
und ohne Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) bei 1° C

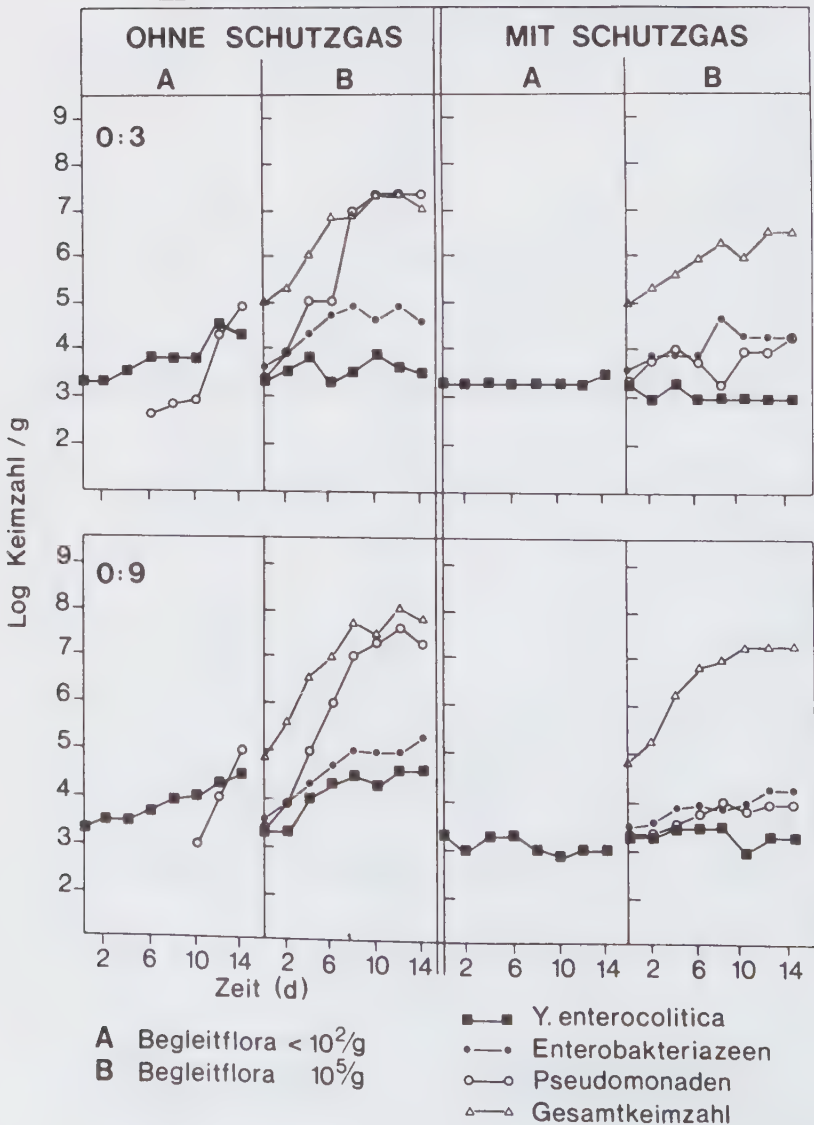


Abbildung 4

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in Hackfleisch
mit unterschiedlicher Ausgangskeimbelastung sowie mit
und ohne Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) bei 4° C

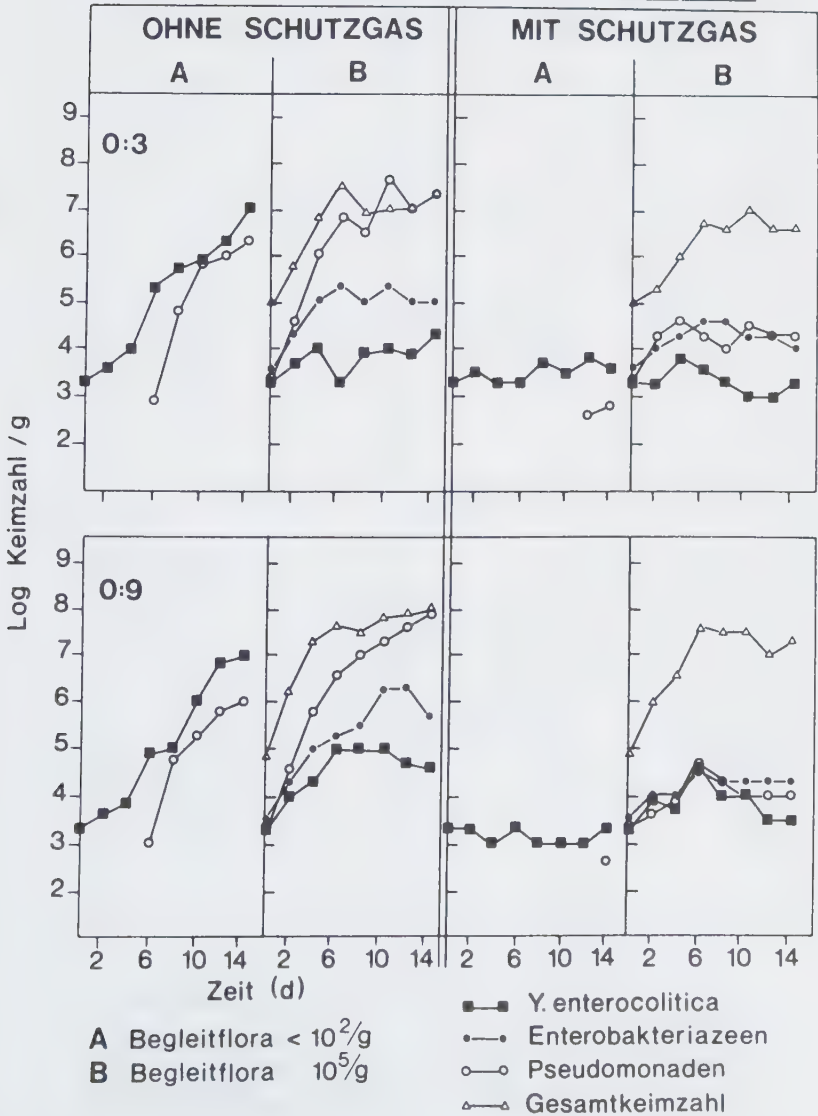


Abbildung 5

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in Hackfleisch
mit unterschiedlicher Ausgangskeimbelastung sowie mit
und ohne Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) bei 10° C

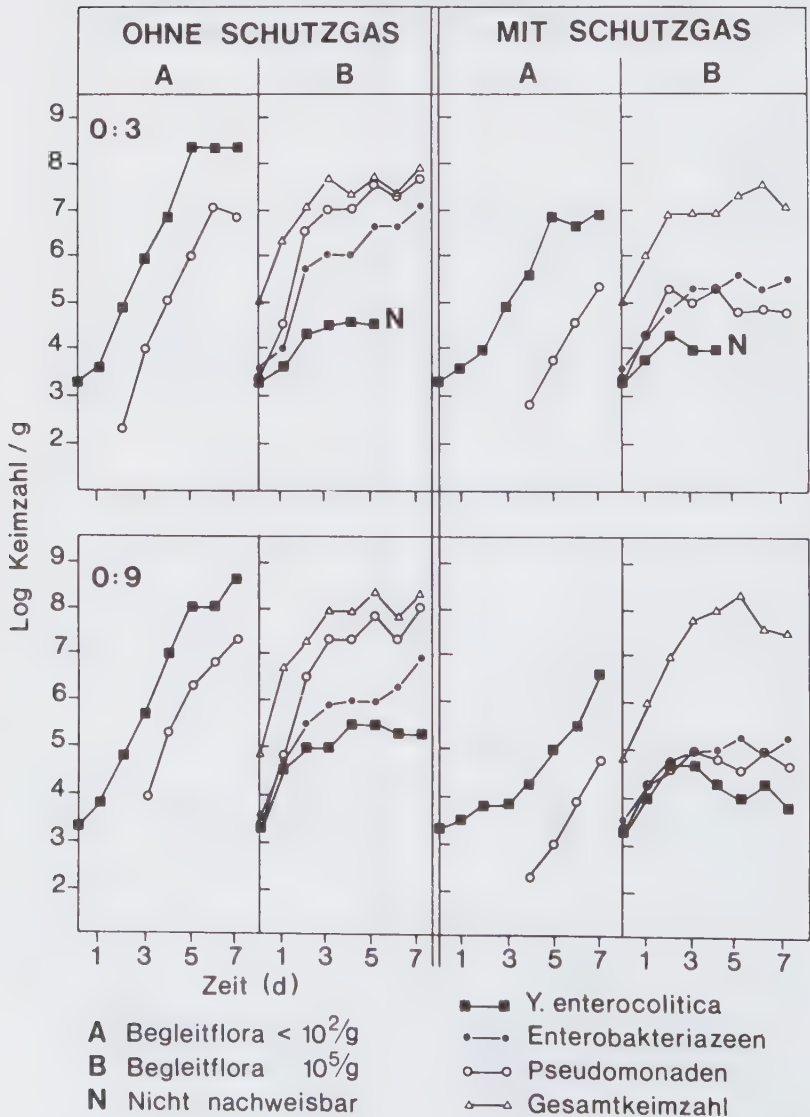


Abbildung 6

Vermehrung von *Y. enterocolitica* 0:3 und 0:9 in Hackfleisch
mit unterschiedlicher Ausgangskeimbelastung sowie mit
und ohne Schutzgas (20% CO₂, 80% O₂) bei 15° C

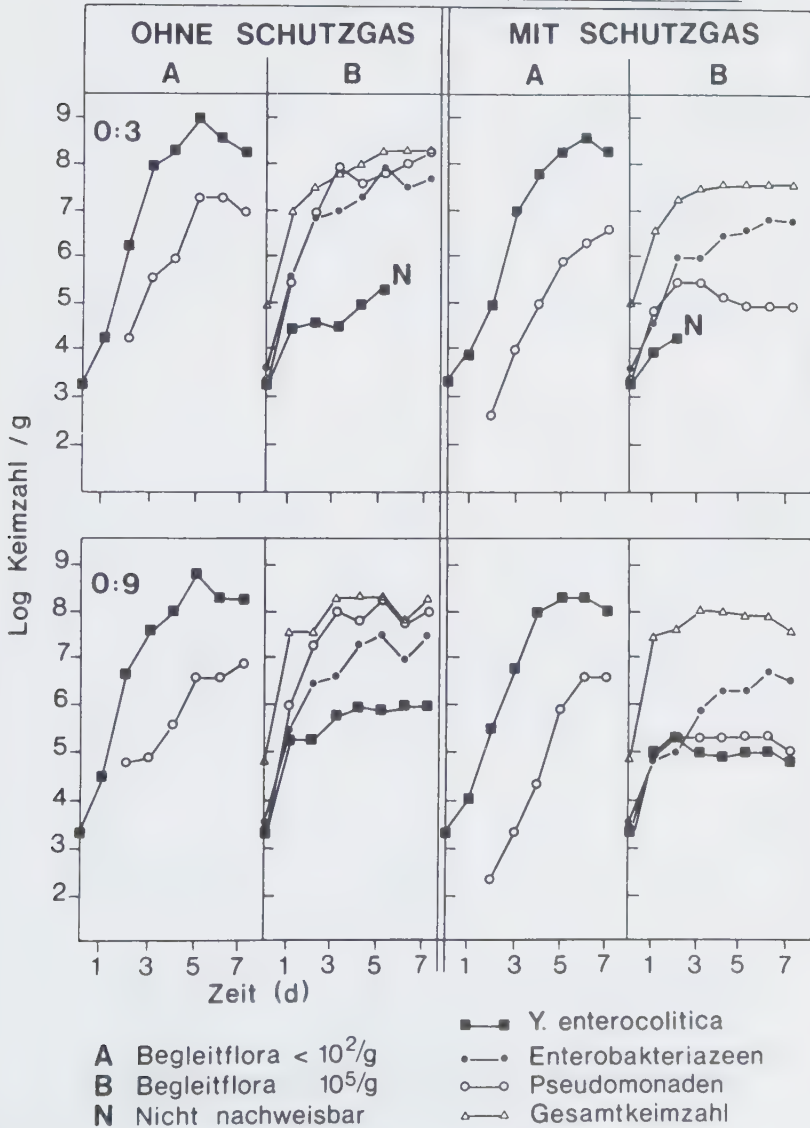
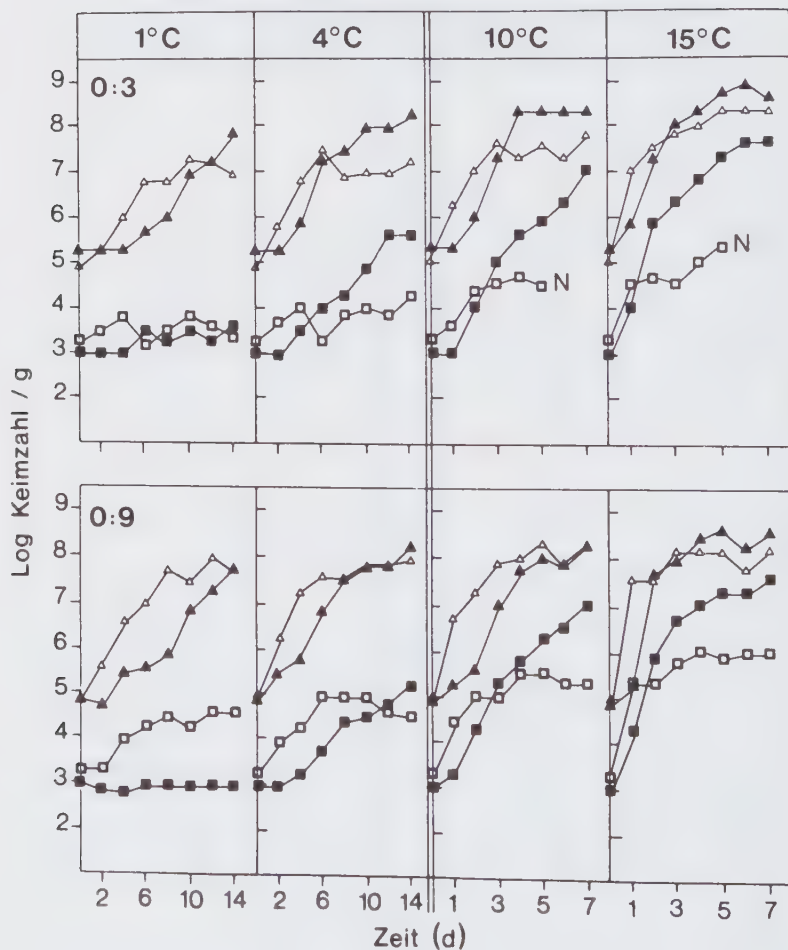


Abbildung 7

Vergleich der Keimentwicklung in Kalbsbratwurstbrät und Hackfleisch: *Y. enterocolitica*, Gesamtkeimzahl

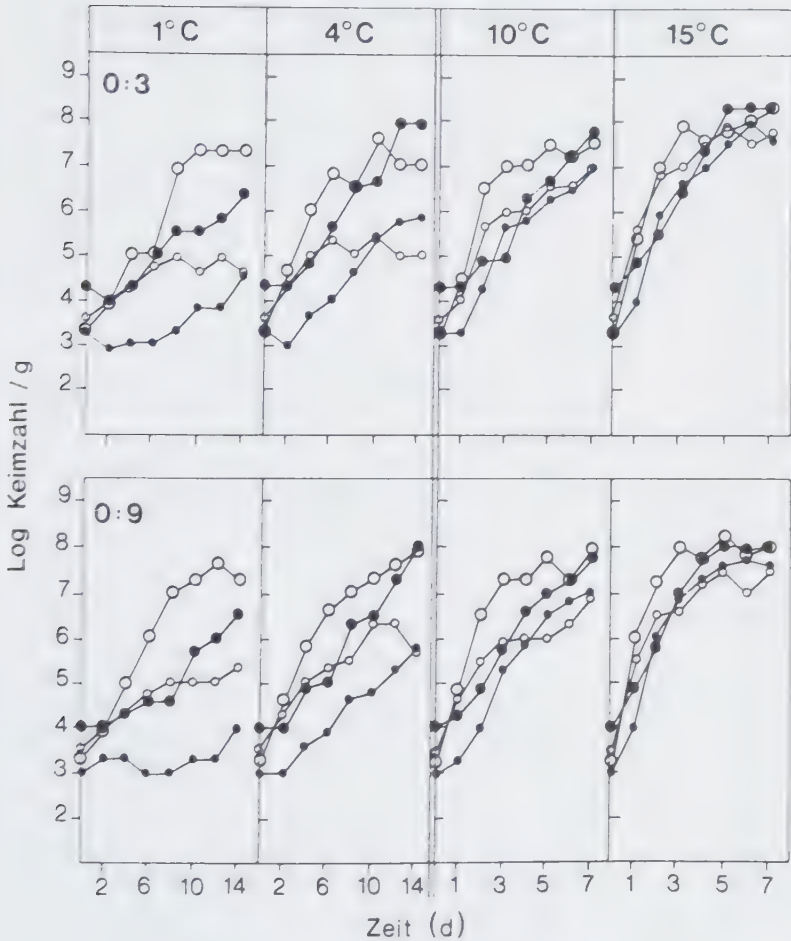


Y. enterocolitica: in Kalbsbratwurstbrät
in Hackfleisch

Gesamtkeimzahl: in Kalbsbratwurstbrät
in Hackfleisch

Abbildung 8

Vergleich der Keimentwicklung in Kalbsbratwurstbrät und Hackfleisch: Pseudomonaden, Enterobakteriazeen

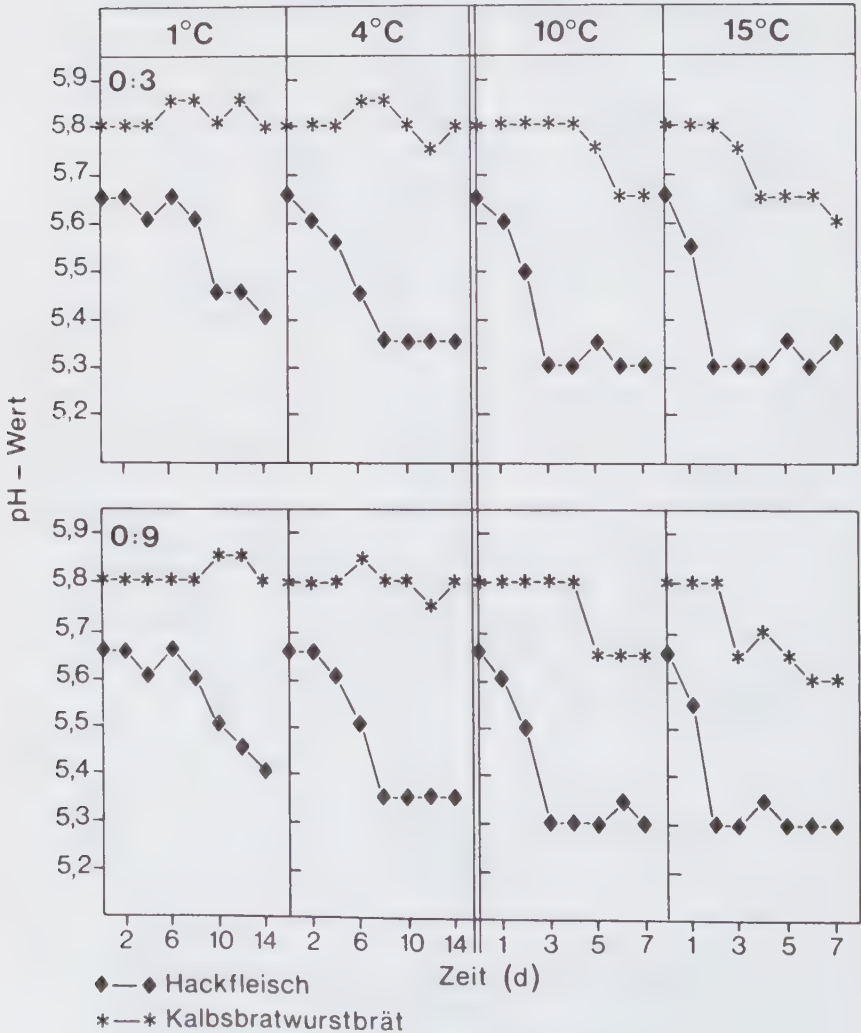


Pseudomonaden :	in Kalbsbratwurstbrät	●—●
	in Hackfleisch	○—○
Enterobakteriazeen :	in Kalbsbratwurstbrät	●—●
	in Hackfleisch	○—○

Abbildung 9

Verlauf des pH-Wertes in Kalbsbratwurstbrät
und Hackfleisch

(Ausgangskeimzahl $10^5/q$, ohne Schutzgas)



VII. LITERATURVERZEICHNIS

Adams, J.R. and D.L. Huffmann (1972).

Effect of controlled gas atmospheres and temperatures on quality of packaged pork.

J. Food Sci. 37: 869-872

Agbonlahor, D.E., T. Odugbemi and D. Dosunmu-Ogunbi (1982).

Differential and selective medium for isolation of *Yersinia enterocolitica* from stools.

J. Clin. Microbiol. 15: 599-602

Aldova, E., J. Sobotkova, A. Brezinova, J. Cerna, M. Janeckova, J. Pegrimkova and V. Pokorna (1981).

Yersinia enterocolitica in water and foods.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 173: 464-470

Aldova, E. and E. Svandova (1984).

Yersinia enterocolitica 0:3 findings on porcine tongues in comparison with yersiniosis incidence in man in Czechoslovakia.

J. Hyg. Epidem. 28: 319-329

Aleksic, S. and J. Bockemühl (1984).

Proposed revision of the Wauters et al. antigenic scheme for serotyping of *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 20: 99-102

Aleksic, S., J. Bockemühl and F. Lange (1986).

Studies on the serology of flagellar antigens of *Yersinia enterocolitica* and related *Yersinia* species.

Zbl. Bakt. Hyg. A 261: 299-310

Asakawa, Y., S. Akahane, K. Shiozawa and T. Honma (1979).

Investigations of source and route of *Yersinia enterocolitica* infection.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 115-121

Aulisio, C.C.G., I.J. Mehlman and A.C. Sanders (1980).

Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods.

Appl. Environ. Microbiol. 39: 135-140

Aulisio, C.C.G., W.E. Hill, J.T. Stanfield and R.L. Sellers (1983).

Evaluation of virulence factor testing and characteristics of pathogenicity in *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 40: 330-335

Bailey, J.S., J.O. Reagan, J.A. Carpenter, G.A. Schuler and J.E. Thomson (1979).

Types of bacteria and shelf-life of evacuated carbon dioxide-injected and ice-packed broilers.

J. Food Prot. 42: 218-221

Banks, H., R. Nickelson and G. Finne (1980).

Shelf-life studies on carbon dioxide packed finfish from the gulf of Mexico.

J. Food Sci. 45: 157-162

Bercovier, H., D.J. Brenner, J. Ursing, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, J.M. Alonso, G.P. Carter and H.H. Mollaret (1980).

Characterization of *Yersinia enterocolitica sensu stricto*.

Curr. Microbiol. 4: 201-206

Bercovier, H., J. Brault, S. Cohen, R. Melis, T. Lambert and H.H. Mollaret (1984).

A new isolation medium for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from environmental sources.

Curr. Microbiol. 10: 121-124

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th ed.).

The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA (1974).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1.
The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA (1984).

Beumer, R.R., S.K. Tamminga and E.H. Kampelmacher (1983).
Microbiological investigation of "filet americain".
Arch. Lebensmittelhyg. 34: 29-40

Bockemühl, J. (1982).

Die enteralen Yersiniosen: Pathogenese, klinischer Verlauf,
Epidemiologie und Diagnose.
Immun. Infekt. 10: 180-186.

Bockemühl, J. und J. Roth (1978).

Brucella-Titer bei subklinischen Infektionen mit *Yersinia*
enterocolitica Serotyp O:9 in einem Schweinezuchtbetrieb.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 240: 86-93

Bowen, J.H. and S.D. Kominos (1979).

Evaluation of a pectin agar for isolation of *Yersinia* ente-
rocolitica within 48 hours.
Amer. J. Clin. Pathol. 72: 586-590

Brackett, R.E. (1986).

Growth and survival of *Yersinia enterocolitica* at acidic
pH.
Int. J. Food Microbiol. 3: 243-251

Brenner D.J., H. Bercovier, J. Ursing, J.M. Alonso, A.G.
Steigerwalt, G.R. Fanning, G.P. Carter and H.H. Mollaret
(1980).

Yersinia intermedia: A new species of Enterobacteriaceae
composed of rhamnose-positive, melibiose-positive, raffinose-
positive strains (formerly called *Yersinia enterocolitica*-
like or *Yersinia enterocolitica*-like).
Curr. Microbiol. 4: 207-212

Breuer, J. und K. Kniewallner (1985).

Vorkommen von *Yersinia* in Hackfleisch, Innereien, Mettwürsten und Geflügel.

Proceed. 26. Arbeitstagung Lebensmittelhyg. der Dtsch. Vet. Med. Ges., Garmisch-Partenkirchen: 260-263

Büsser, L. (1974).

Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Stuhlproben des Kantons Zürich.

Med. Diss, Zürich

Caprioli, T., A.J. Drapeau and S. Kasatiya (1978).

Yersinia enterocolitica: Serotypes and biotypes isolated from humans and the environment in Quebec, Canada.

J. Clin. Microbiol. 8: 7-11

Carter, P.B., R.J. Zahorchak and R.R. Brubaker (1980).

Plague virulence antigens from *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 28: 638-640

Chang, M.T., J. Schink, J. Shimaoka and M.P. Doyle (1984).

Comparison of three tests for virulent *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 20: 589-591

Chiesa, C. and E.J. Bottone (1983).

Serum resistance of *Yersinia enterocolitica* expressed in absence of other virulence markers.

Infect. Immun. 39: 469-472

Christensen, S.G. (1980 a).

Yersinia enterocolitica i fodemiddelkæden.

Nord. Vet.-Med. 32: 332-340

Christensen, S.G. (1980 b).

Yersinia enterocolitica in danish pigs.

J. Appl. Bact. 48: 377-382

Christensen, S.G. (1981).

The *Yersinia enterocolitica* prevalence in slaughter animals, water and raw milk in Denmark.

In: Roberts, T.A. (ed.): Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity.

Acad. Press, London: 439-445

Clark, D.S. and C.P. Lentz (1969).

The effect of carbon dioxide on the growth of slime producing bacteria on fresh beef.

Can. Inst. Food Technol. J. 2: 72-75

De Boer, E., B.J. Hartog and J. Oosterom (1982).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in poultry products.

J. Food Prot. 45: 322-325

De Boer, E., W.M. Seldam and J. Oosterom (1986).

Characterization of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from foods and porcine tonsils in the Netherlands.

Int. J. Food Microbiol. 3: 217-224

De Felip, G., L. Orefice, L. Croci, L. Toti and S. Gizzarelli (1985).

New method for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from food.

Arch. Lebensmittelhyg. 36: 125-127

Delmas, C.L. and D.J.-M. Vidon (1985).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from foods in France.

Appl. Environ. Microbiol. 50: 767-771

De Zutter, L. and J. Van Hoof (1986).

Comparison of isolation techniques for the recovery of clinically important strains of *Yersinia enterocolitica* from oral cavity of pigs.

Proceed. 2nd world congress: Foodborne infections and intoxications, Berlin (West), Volume II: 1168-1171

Doyle, M.P., M.B. Hugdahl and S.L. Taylor (1981).

Isolation of virulent *Yersinia enterocolitica* from porcine tongues.

Appl. Environ. Microbiol. 42: 661 - 666

Doyle M.P. and M.B. Hugdahl (1983).

Improved procedure for recovery *Yersinia enterocolitica* from meats.

Appl. Environ. Microbiol. 45: 127 - 135

Dudley, M.V. and E.B. Shotts (1979).

Medium for isolation of *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 10: 180 - 183

El-Nawawy, M.A., A.K. Abdel-Latif and H.A. El-Mansy (1986).

Inhibition of *Yersinia enterocolitica* by dairy starter cultures.

Proceed. 2nd world congress : Foodborne infections and intoxications, Berlin (West), Volume I : 638 - 641

Enfors, S.O., G. Molin and A. Ternström (1979).

Effect of packing under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4° C.

J. Appl. Bact. 47: 197 - 208

Esseveld, H. and C. Gourdzwaaard (1973).

On the epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections: Pigs as the source of infection in man.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 99 - 101

Feeley, J.C. (1981).

Isolation techniques for *Yersinia enterocolitica*.

In: Bottone, E.J. (ed.) : *Yersinia enterocolitica*.

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida : 9 - 15

Feeley, J.C., W.H. Lee and G.K. Morris (1976).

Yersinia enterocolitica.

In: Speck, M.L. (ed.) : Compendium of methods for the microbiological examination of foods.

American Public Health Association, Washington : 315 - 357

Feeley, J.C. , J.G. Wells, T.F. Tsai and N.D. Puhr (1979).

Detection of enterotoxigenic and invasive strains of *Yersinia enterocolitica*.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 329 - 334

Figura, N., P. Rossi, C. Chiarugi, A. Barberi, A. Podda and A. Rossolini (1985).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* strains from pigs and wild boars.

Boll. Ist. Sieroter. Milan. 64: 345 - 346

Francis, D.W., P.L. Spaulding and J. Lovett (1980).

Enterotoxin production and thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* in milk.

Appl. Environ. Microbiol. 40: 174 - 176

Frederiksen, W. (1964).

A study of some *Yersinia pseudotuberculosis*-like bacteria ("Bacterium enterocoliticum" and "Pasteurella X").

Proceed. 14th Scand. Congr. Path. Microbiol., Oslo:103 - 104

Fukushima, H. (1985).

Direct isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from meat.

Appl. Environ. Microbiol. 50: 710 - 712

Fukushima, H. (1986).

Yersinia enterocolitica serotype O3 in naturally infected raw pork.

Jap. J. Vet. Sci. 48: 183 - 187

Fukushima, H., Y. Ito, K. Saito, M. Tsubokura and K. Otsuki (1979).

Role of the fly in the transport of *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 38: 1009 - 1010

Fukushima, H., K. Saito, M. Tsubokura and K. Otsuki (1984a).

Yersinia spp. in surface water in Matsue, Japan.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 179: 235 - 247

Fukushima, H., K. Saito, M. Tsubokura, K. Otsuki and Y. Kawakawa (1984b).

Significance of milk as a possible source of infection for human yersiniosis.

I. Incidence of *Yersinia* organisms in raw milk in Shimane Prefecture, Japan.

Vet. Microbiol. 9: 139 - 146

Fukushima, H. and M. Gomyoda (1986).

Inhibition of *Yersinia enterocolitica* serotype 03 by natural microflora of pork.

Appl. Environ. Microbiol. 51: 990 - 994

Gemski, P., J.R. Lazere and T. Casey (1980).

Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 27: 682 - 685

Gill, C.O. and K.G. Newton (1979).

Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures.

Appl. Environ. Microbiol. 37: 362 - 364

Gill, C.O. and K.H. Tan (1980).

Effect of carbon dioxide on growth of meat spoilage bacteria.

Appl. Environ. Microbiol. 39: 317 - 319

Grau, F.H. (1981).

Role of pH, lactate, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram-negative bacteria on beef. Appl. Environ. Microbiol. 42: 1043 - 1050

Greenwood, M.H. and W.L. Hooper (1985).

Yersinia spp. in foods and related environments. Food Microbiol. 2: 263 - 269

Guthertz, L.S., J.T. Fruin, D. Spicer and J.L. Fowler (1976).

Microbiology of fresh comminuted turkey meat. J. Milk Food Technol. 39: 823 - 829

Hammerschmidt, W. (1983).

Pathogenitätsfaktoren von *Yersinia enterocolitica*
Untersuchungen an Stämmen von Mensch, Schwein, Hund und Katze.
Vet. Med. Diss., Berlin

Hanna, M.O., D.L. Zink, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1976).

Yersinia enterocolitica-like organisms from vacuum-packaged beef and lamb. J. Food Sci. 41: 1254 - 1256

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977a).

Effect of heating, freezing, and pH on *Yersinia enterocolitica*-like organisms from meat. J. Food Prot. 40: 689 - 692

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977b).

Effect of packaging methods on the development of *Yersinia enterocolitica* on beef steaks. J. Food Safety 1: 29 - 37

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977c).

Development of *Yersinia enterocolitica*-like organisms in pure and mixed cultures on different Bismuth Sulfite agars.
J. Food Prot. 40: 676 - 677

Hanna, M.O., J.C. Stewart, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977d).

Heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skim milk.
J. Food Sci. 42: 1134, 1136

Hanna, M.O., J.C. Stewart, D.L. Zink, Z.L. Carpenter and C. Vanderzant (1977e).

Development of *Yersinia enterocolitica* on raw and cooked beef and pork at different temperatures.
J. Food Sci. 42: 1180 - 1184

Hanna, M.O., G.C. Smith, L.C. Hall, C. Vanderzant and A.B. Childers (1980).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from pig tonsils.
J. Food Prot. 43: 23 - 25

Hänninen, M.-L. and M. Raevuori (1981).

Occurrence of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* and *Yersinia enterocolitica* in domestic animals and in some foods of animal origin in Finland.

Nord. Vet.-Med. 33: 441 - 445

Harmon, M.C., C.L. Yu and B. Swaminathan (1983).

An evaluation of selective differential plating media for the isolation of *Yersinia enterocolitica* from experimentally fresh ground pork homogenate.

J. Food Sci. 48: 6 - 9

Harmon, M.C., B. Swaminathan and J.C. Forrest (1984).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from porcine samples obtained from an abattoir.

J. Appl. Bact. 56: 421 - 427

Head, C.B., D. A. Whitty and S. Ratnam (1982).

Comparative study of selective media for recovery of *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 16 : 615 - 621

Heim, F., G. Scheibner und K. Fehlhaber (1980).

Untersuchungen über die Vermehrungsfähigkeit von *Yersinia enterocolitica* bei verschiedenen pH-Werten und unterschiedlichem NaCl-Gehalt der Nährmedien.

Mh. Vet.-Med. 35: 347 - 348

Heim, D. und F. Heim (1982).

Untersuchungen zum Vorkommen, zu lebensmittelhygienisch bedeutsamen Eigenschaften und zum Verhalten von *Yersinia enterocolitica* in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Vet. Med. Diss, Berlin (Ost)

Heim, F., K. Fehlhaber und G. Scheibner (1984).

Untersuchungen über das Verhalten von *Yersinia enterocolitica* bei unterschiedlichen Temperaturen und verschiedenen Pökelsalzkonzentrationen.

Arch. Exp. Vet. Med. 38: 729 - 734

Heim, D., K. Fehlhaber und G. Scheibner (1985).

Untersuchungen über das Verhalten von *Yersinia enterocolitica* in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Mh. Vet.-Med. 40: 95 - 98

Heinrich, G. (1985).

Experimentelle Studien zur Überlebensfähigkeit und Infektiosität von *Yersinia enterocolitica* Stämmen in kontaminierten Lebensmitteln.

Vet. Med. Diss., Berlin

Hess, E., W. Ruosch und C. Breer (1980).

Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit von verpacktem
Frischfleisch.

Fleischwirtsch. 60: 1448 - 1461

Huffmann, D.L., K.A. Davis, D.N. Marple and J.A. Mc Guire
(1975).

Effect of gas atmospheres on microbial growth, color and pH
of beef.

J. Food Sci. 40: 1229 - 1231

Hurvell, B., M.-L. Danielsson-Tham and E. Olsson (1981).

Zoonotic aspects of *Yersinia enterocolitica* with special
reference to its ability to growth at low temperatures.

In: Roberts, T.A., (ed.): Psychrotrophic microorganisms in
spoilage and pathogenicity.

Acad. Press, London: 393 - 399

Inoue, M. and M. Kurose (1975).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from cow's intestinal
contents and beef meat.

Jap. J. Vet. Sci. 37: 91 - 93

Kandola, K. and G. Wauters (1985).

Pyrazinamidase activity in *Yersinia enterocolitica* and
related organisms.

J. Clin. Microbiol. 21: 980 - 982

Kaneko, S., K. Jinbo, Y. Kokuba, M. Matsumoto and T. Maruyama
(1984).

Isolation methods for *Yersinia enterocolitica* from meat

Selectivity of CIN medium and effect of alkali treatment.

J. Food Hyg. Soc. Jap. 25: 424 - 429

Kaneko , S., Y. Kokubo, K. Jinbo, M. Matsumoto, T. Maruyama and K. Takeshige (1985).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from swine and meats in Japan.

Proceed. 9th international symposium : World association of veterinary food hygienists, Budapest, Volume 2: 343

Kaneko, S. and T. Maruyama (1986).

Relationship between the presence of 44 megadalton plasmid and calcium dependency or autoagglutination to serotype O3 strains of *Yersinia enterocolitica*.

Jap. J. Vet. Sci. 48: 205 - 210

Karaioannoglou, P., P. Koidis, D. Papageorgiou and A. Mantis (1985).

Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta cheese.

Milchwissensch. 40: 204 - 206

Kendall, M. and R.J. Gilbert (1980).

Survival and growth of *Yersinia enterocolitica* in broth media and in food.

Technical Series, Soc. Appl. Bact. 15: 215 - 226

Knapp, W. (1983).

Yersinia enterocolitica.

Bundesgesundhbl. 26: 381 - 389

Knapp, W. und A. Weber (1982).

Zur epidemiologischen und seuchenhygienischen Bedeutung von *Yersinia pestis* und *Yersinia enterocolitica*.

Öff. Gesundh.-Wes. 44: 352 - 356

Kovats, S.K., M.P. Doyle and N. Tanaka (1984).

Evaluation of the microbiological safety of tofu.

J. Food Prot. 47: 618 - 622

Laird, W.J. and D.C. Cavanaugh (1980).

Correlation of autoagglutination and virulence of *Yersinia*.

J. Clin. Microbiol. 11: 430 - 432

Lannelongue, M., M.O. Hanna, G. Finne, R. Nickelson and C. Vanderzant (1982).

Storage characteristics of Finfish fillets (*Archosargus probatocephalus*) packaged in modified gas atmospheres containing carbone dioxide.

J. Food Prot. 45: 440 - 444

Lee, W.H. (1977a).

An assessment of *Yersinia enterocolitica* and its presence in foods.

J. Food Prot. 40: 486 - 489

Lee, W.H. (1977b).

Two plating media modified with Tween 80 for isolating *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 33: 215 - 216

Lee, W.H., M.E. Harris, D. McClain, R.E. Smith and R.W. Johnston (1980).

Two modified selenite media for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats.

Appl. Environ. Microbiol. 39: 205 - 209

Leemann, R. (1979).

Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Kotproben von Schlächtschweinen.

Zbl. Vet. Med. B 26: 214 - 221

Leistner, L., H. Hechelmann, M. Kashiwazaki und R. Albertz (1975).

Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Faeces und Fleisch von Schweinen, Rindern und Geflügel.

Fleischwirtsch. 55: 1599 - 1602

Lovett, J., J.G. Bradshaw and J.T. Peeler (1982).

Thermal inactivation of *Yersinia enterocolitica* in milk.
Appl. Environ. Microbiol. 44: 517 - 519

Mantis, A., P. Koidis and P. Karaioannoglou (1982).

Survival of *Yersinia enterocolitica* in yoghurt.
Milchwissensch. 37: 654 - 656

Marinelli, G., C. Dinnocenzo, L. Fabiani and V. Leoni (1985).

Application of a simplified method for recovery of *Yersinia enterocolitica* from surface waters.
Appl. Environ. Microbiol. 49: 1348 - 1349

Mehlmann, I.J., C.C.G. Aulisio and A.C. Sanders (1978).

Problems in the recovery and identification of *Yersinia* from food.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 61: 761 - 771

Moustafa, M.A., A.A-H. Ahmed and E.H. Marth (1983a).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in raw and pasteurized milk.
J. Food Prot. 46: 276 - 278

Moustafa, M.A., A.A-H. Ahmed and E.H. Marth (1983b).

Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of Colby-like cheese.
J. Food Prot. 46: 318 - 320

Myers, B.R., R.T. Marshall, J.E. Edmondson and W.C. Stringer (1982).

Isolation of pectinolytic *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* from vacuum-packaged pork.
J. Food Prot. 45: 33 - 37

Narucka, U. en J.F. Westendoorp (1977).

Een enderzoek naar het voorkomen van *Yersinia enterocolitica* en *Yersinia pseudotuberculosis* bij klinisch normale varkens.

Tijdschr. Diergeneesk. 102: 299 - 303, 317

Nesbakken, T. (1985).

Comparison of sampling and isolation procedures for recovery of *Yersinia enterocolitica* sertype 0:3 from the oral cavity of slaughter pigs.

Acta Vet. Scand. 26: 127 - 135

Nesbakken, T. and G. Kapperud (1985).

Yersinia enterocolitica and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in norwegian slaughter pigs.

Int. J. Food Microbiol. 1: 301 - 309

Nesbakken, T., B. Gondrosen and G. Kapperud (1985).

Investigation of *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia enterocolitica*-like bacteria, and thermotolerant campylobacters in norwegian pork products.

Int. J. Food Microbiol. 1: 311 - 320

Nieslsen, H.-J.S. and P. Zeuthen (1985a).

Influence of lactic acid bacteria and the overall flora on development of pathogenic bacteria in vacuum-packed, cooked emulsion-style sausage.

J. Food Prot. 48: 28 - 34

Nielsen, H.-J.S. and P. Zeuthen (1985b).

Sodium chloride and pathogenic bacteria in a vacuum-packed minced-meat product.

J. Food Prot. 48: 150 - 155

Nilehn, B. (1969a).

Studies on *Yersinia enterocolitica* with special reference to bacterial diagnosis and occurrence in human acute enteric disease.

Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl. 206: 1 - 48

Nilehn, B. (1969b).

Studies on *Yersinia enterocolitica*

Growth on various solid media at 37° C and 25° C.

Acta Path. Microbiol. Scand. 77: 685 - 697

Norberg, P. (1981).

Enteropathogenic bacteria in frozen chicken.

Appl. Environ. Microbiol. 42: 32 - 34

Oosterom, J. (1979).

Isolation and epidemiological significance of *Yersinia enterocolitica*.

Antonie v. Leeuwenhoek 45: 630 - 633

Pai, C.H. and V. Mors (1978).

Production of enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 19: 908 - 911

Pai, C.H. and L. De Stephano (1982).

Serum resistance associated with virulence in *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 35: 605 - 611

Park C. E. (1980).

A new sensitive technique for the isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods.

IAMS Committee on Food Microbiology and Hygiene

XI. International Symposium 6. - 11.7.1980 Aalborg, Denmark

Pedersen, K.B. (1979).

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in the throat of swine.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 253 - 256

Pedersen, K.B., S. Winblad and V. Bitsch (1979).

Studies on the interaction between different O-serotypes of *Yersinia enterocolitica* and HeLa cells.

Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 87: 141 - 145

Peixotto, S.S., G. Finne, M.O. Hanna and C. Vanderzant (1979).

Presence, growth and survival of *Yersinia enterocolitica* on oysters, shrimp and crab.

J. Food Prot. 42: 974 - 981

Primavesi, C.A. (1980).

Die Yersiniose und ihre seuchenhygienische Bedeutung.

Öff. Gesundh.-Wes. 42: 111 - 115

Prpic, J.K., R.M. Robins-Browne and R.B. Davey (1985).

In vitro assessment of virulence in *Yersinia enterocolitica* and related species.

J. Clin. Microbiol. 22: 105 - 110

Raccach, M. and E.C. Henningsen (1984).

Role of lactic acid bacteria, curing salts, spices and temperature in controlling the growth of *Yersinia enterocolitica*.

J. Food Prot. 47: 354 - 358

Raevuori, Nurmi und Hill (1979).

Europäischer Fleischforscher Kongress, Kulmbach
Fleischwirtsch. 59: 63

Restaino, L., W.S. Jeter and W.M. Hill (1980).

Thermal injury of *Yersinia enterocolitica*.

Appl. Environ. Microbiol. 40: 939 - 949

Saari, T.N. and G.P. Jansen (1979).

Waterborne *Yersinia enterocolitica* in the Midwest United States.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 185 - 195

Sander, E.H. and H.-M. Soo (1978).

Increasing shelf life by carbon dioxide treatment and low temperature storage of bulk pack fresh chickens packaged in Nylon/Surlyn film.

J. Food Sci. 43: 1519 - 1523, 1527

Schiemann, D.A. (1978a).

Association of *Yersinia enterocolitica* with the manufacture of cheese and occurrence in pasteurized milk.

Appl. Environ. Microbiol. 36: 274 - 277

Schiemann, D.A. (1978 b).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from surface and well waters in Ontario.

Can. J. Microbiol. 24: 1048 - 1052

Schiemann, D.A. (1979a).

Enrichment methods for recovery of *Yersinia enterocolitica* from foods and raw milk.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 212 - 227

Schiemann, D.A. (1979b).

Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*.

Can. J. Microbiol. 25: 1298 - 1304

Schiemann, D.A. (1980).

Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products.

J. Food Prot. 43: 360 - 365

Schiemann, D.A. (1982).

Development of a two-step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food.

Appl. Environ. Microbiol. 43: 14 - 27

Schiemann, D.A. (1983a).

Alkalotolerance of *Yersinia enterocolitica* as a basis for selective isolation from food enrichments.

Appl. Environ. Microbiol. 46: 22 - 27

Schiemann, D.A. (1983b).

Comparison of enrichment and plating media for recovery of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* from inoculated beef stew.

J. Food Prot. 46: 957 - 964

Schiemann, D.A. (1984 a).

Antigenic identity of *Yersinia enterocolitica* serotypes O: Tacoma and O21.

J. Clin. Microbiol. 20: 831 - 832

Schiemann, D.A. (1984b).

Emerging food pathogens: *Yersinia enterocolitica*.

J. Food Prot. 47: 827

Schiemann, D.A. and S. Toma (1978).

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk.

Appl. Environ. Microbiol. 35: 54 - 58

Schiemann, D.A., J.A. Devenish and S. Toma (1981).

Characteristics of virulence in human isolates of *Yersinia enterocolitica*.

Infect. Immun. 32: 400 - 403

Schiemann, D.A. and S.A. Olson (1984).

Antagonism by gram-negative bacteria to growth of *Yersinia enterocolitica* in mixed cultures.

Appl. Environ. Microbiol. 48: 539 - 544

Schleifstein, J.I. and M.B. Coleman (1939).

An unidentified microorganism resembling *B. lignieri* and *Past. pseudotuberculosis*, and pathogenic for man.

N.Y. State J. Med. 39: 1749 - 1753

Schleifstein, J.I. and M.B. Coleman (1943).

Annual report of the division of laboratories and research, Albany

zit. nach Frederiksen (1964)

Schulze, K. (1986).

Stichwort: Yersiniose/*Yersinia enterocolitica*.

Rundschau für Fleischuntersuchung und Lebensmittelüberwachung 37: 71 - 72

Seelye, R.J. and B.J. Yearbury (1979).

Isolation of *Yersinia enterocolitica*-resembling organisms and *Alteromonas putrefaciens* from vacuum-packed chilled beef cuts.

J. Appl. Bact. 46: 493 - 499

Soltesz, L.V., C. Schalen and P.-A. Mardh (1980).

An effective, selective medium for *Yersinia enterocolitica* containing sodium oxalate.

Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 88: 11 - 16

Sonnenwirth, A.C. (1970).

Bacteremia with and without meningitis due to *Yersinia enterocolitica*, *Edwardsiella tarda*, *Comamonas terrigena*, and *Pseudomonas maltophilia*.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 174: 488 - 502

Stengel, G. (1983).

Ein Beitrag zum Vorkommen von *Yersinia enterocolitica*.
Vet. Med. Diss., Berlin

Stengel, G. (1985).

Yersinia enterocolitica
Vorkommen und Bedeutung in Lebensmitteln.
Fleischwirtsch. 65: 1490 - 1495

Stern, N.J. (1981).

Isolation of potentially virulent *Yersinia enterocolitica*
from variety meats.

J. Food Sci. 46: 41 - 42, 51

Stern, N.J., M.D. Pierson and A.W. Kotula (1980).

Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica*
growth at room and refrigeration temperatures.

J. Food Sci. 45: 64 - 67

Stern, N.J. and J.M. Damare (1982).

Comparison of selected *Yersinia enterocolitica* indicator
tests for potential virulence.

J. Food Sci. 47: 582 - 584, 588

Szita, J., A. Svidro, M. Kubinyi, I. Nyomarkay and I. Mihalyfi (1980).

Yersinia enterocolitica infection of animals and human contacts.

Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 27: 103 - 109
zit. nach Fukushima (1986)

Tamminga, S.K., R.R. Beumer en E.H. Kampelmacher (1980).

Bakteriologisch onderzoek van hamburgers. I Onderzoek van
rauwe, gewelde, of voorgebraden hamburgers.

Voedingsmiddelentechnologie 21: 29 - 34

Tanaka, N., S.K. Kovats, J.A. Guggisberg, L.M. Meske and M.P. Doyle (1985).

Evaluation of the microbiological safety of tempeh made from unacidified soybeans.

J. Food Prot. 48: 438 - 441

Tändler, K. und G. Heinz (1971).

Frischfleischreifung im Vakuumbeutel

III. Mitteilung.

Fleischwirtsch. 51: 56 - 64

Toma, S. (1973).

Survey on the incidence of *Yersinia enterocolitica* in the Province of Ontario.

Can. J. Publ. Health 64: 477 - 487

Toma, S. and L. Lafleur (1981).

Yersinia enterocolitica infections in Canada 1966 to august 1978.

In: Bottone, E.J. (ed.): *Yersinia enterocolitica*.

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: 183 - 191

Toma, S., G. Wauters, H.M. McClure, G.K. Morris and A.S. Weissfeld (1984).

O:13a,13b, a new pathogenic serotype of *Yersinia enterocolitica*.

J. Clin. Microbiol. 20: 843 - 845

Traub, W.H. and M. Spohr (1982).

Gram-negative broth (Hajna) for enrichment and isolation of *Yersinia enterocolitica*.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 253: 417 - 422

Troller, J.A. (1980).

Salmonella and *Shigella*.

In: Defigueiredo, M.P. (ed.) : Food microbiology : Public health and spoilage aspects.

AVI Publ. Comp., Inc., Connecticut: 129 - 155

Tsubokura, M., K. Otsuki and K. Itagaki (1973).

Studies on *Yersinia enterocolitica*. I. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from swine.

Jap. J. Vet. Sci. 35: 419 - 424

Vandepitte, J., G. Wauters and A. Isebaert (1973).

Epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 111 - 119

Vandepitte, J. and G. Wauters (1979).

Epidemiological and clinical aspects of human *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 150 - 158

Van Landuyt, H.W., B.L.L. Denolf and J.-M. Fossepre (1981).

Improved isolation of *Yersinia enterocolitica* with a new cold enrichment broth.

Infect. 9: 103 - 105

Van Noyen, R., J. Vandepitte and G. Wauters (1980).

Nonvalue of cold enrichment of stools for isolation of *Yersinia enterocolitica* serotypes 3 and 9 from patients.

J. Clin. Microbiol. 11: 127 - 131

Van Pee, W. and J. Stragier (1979).

Evaluation of some cold enrichment and isolation media for the recovery of *Yersinia enterocolitica*.

Antonie v. Leeuwenhoek 45: 465 - 477

Vidon, D.J.M. and C.L. Delmas (1981).

Incidence of *Yersinia enterocolitica* in raw milk in Eastern France.

Appl. Environ. Microbiol. 41: 355 - 359

Walker, S.J. and A. Gilmour (1986).

A comparison of media and methods for the recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria from milk containing simulated raw milk microfloras.

J. Appl. Bact. 60: 175 - 183

Wauters, G. (1970).

Contribution à l'étude de *Yersinia enterocolitica*.

These d'agrégation. Vander, Louvain, Belgium

zit. nach Feeley et al. (1976)

Wauters, G. (1973).

Improved methods for the isolation and the recognition of *Yersinia enterocolitica*.

Contr. Microbiol. Immunol. 2: 68 - 70

Wauters, G. (1979).

Carriage of *Yersinia enterocolitica* serotype 3 by pigs as a source of human infection.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 249 - 252

Wauters, G. (1981a).

Antigens of *Yersinia enterocolitica*.

In: Bottone, E.J. (ed.): *Yersinia enterocolitica*.

CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: 41 - 53

Wauters, G. (1981b).

Correlation between taxonomy, serology and biochemistry of *Yersinia enterocolitica*.

In: Roberts, T.A. (ed.) : Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity.

Acad. Press, London : 387 - 391

Wauters, G., L. Le Minor et A.M. Chalon (1971).

Antigènes somatiques et flagellaires des *Yersinia enterocolitica*.

Ann. Inst. Pasteur 120: 631 - 642

Wauters, G., L. Le Minor, A.M. Chalon et J. Lassen (1972).

Supplément au schéma antigénique de *Yersinia enterocolitica*.

Ann. Inst. Pasteur 122: 951 - 956

Weagant, S.D. and C.A. Kaysner (1983).

Modified enrichment broth for isolation of *Yersinia enterocolitica* from nonfood sources.

Appl. Environ. Microbiol. 45: 468 - 471

Weber, A. und W. Knapp (1981).

Über die jahreszeitliche Abhängigkeit des Nachweises von *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia pseudotuberculosis* in Tonsillen gesunder Schlachtschweine.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250: 78 - 83

Weber, A. und C. Lembke (1981).

Vergleichende Anwendung von zwei Anreicherungsverfahren und fünf Selektivnährböden zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Tonsillen von Schlachtschweinen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250: 72 - 77

Weber, A., C. Lembke und R. Schäfer (1983).

Vergleichende Anwendung von zwei im Handel erhältlichen Selektivnährböden zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Tonsillen von Schlachtschweinen.

Zbl. Vet. Med. B. 30: 532 - 536

Winblad, S. (1967).

Studies on serological typing of *Yersinia enterocolitica*.

Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl. 187: 115

Winblad, S. (1979).

Differentiation of *Yersinia enterocolitica* strains in subgroups after biochemistry and serology.

Contr. Microbiol. Immunol. 5: 44 - 49

Zink, D.L., J.C. Feeley, J.G. Wells, C. Vanderzant, J.C. Vickery, W.D. Roof and G.A. O'Donovan (1980).

Plasmid-mediated tissue invasiveness in *Yersinia enterocolitica*.

Nature 283: 224 - 226

Zink, D.L., R.V. Lachica and J.R. Dubel (1982).

Yersinia enterocolitica and *Yersinia enterocolitica*-like species : Their pathogenicity and significance in foods.

J. Food Safety 4: 223 - 241

Danksagungen

Meinen herzlichsten Dank möchte ich folgenden Personen aussprechen:

- Herrn Prof. Dr. F. Untermann für die Ueberlassung des Themas sowie für die gewährte Hilfsbereitschaft bei der Erstellung der Arbeit
- Herrn Prof. Dr. H.U. Bertschinger, Institut für Veterinär-bakteriologie, für das Korreferat
- Herrn Prof. Dr. A. von Graevenitz, Institut für medizinische Mikrobiologie, Zürich, für das Ueberlassen der in den Lagerungsversuchen verwendeten *Y. enterocolitica*-Stämme
- Herrn Prof. Dr. H.H. Mollaret, Institut Pasteur, Paris, für die Typisierung einiger aus den Proben isolierter Stämme
- Herrn Prof. Dr. J. Bockemühl, Medizinaluntersuchungsanstalt, Hamburg, für die Zusendung der *Y. enterocolitica*-Antiseren 0:8 und 0:5,27

Weiterhin richtet sich mein Dank an alle Mitarbeiter des Institutes für tierärztliche Lebensmittelhygiene und des Institutes für Veterinärbakteriologie für die stets gewährte Hilfe bei der Ausführung der Untersuchungen.

Lebenslauf

02.02.1957	geb. in Berlin-West als Sohn des Schlossers Paul Kleinlein und seiner Ehefrau Käthe, geb. Maass
1963 - 1969	Vereinigte West- und Tews-Schule (Grundschule) in Berlin
1969 - 1973	Beucke-Oberschule (Realschule) in Berlin
1973 - 1975	Menzel-Oberschule (Gymnasium) in Berlin
Juni 1975	Reifeprüfung
1975 - 1980	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin mit Abschluss
Januar 1981	Approbation als Tierarzt
April 1981 - August 1982	Assistent in der Grosstierpraxis
seit Oktober 1982	Assistent am Institut für tierärztliche Lebensmittelhygiene in Zürich

